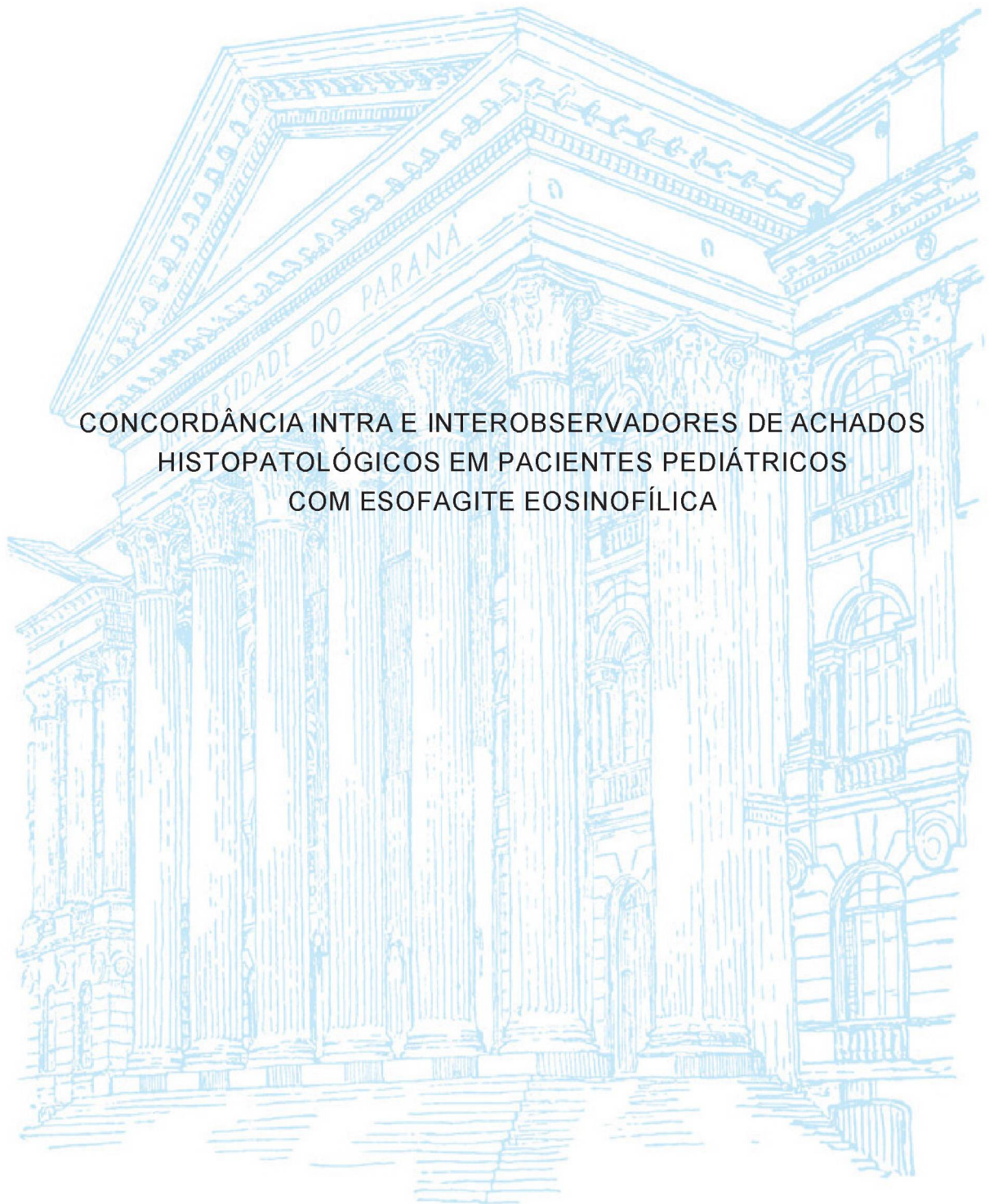


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
MÁRIO CÉSAR VIEIRA



CONCORDÂNCIA INTRA E INTEROBSERVADORES DE ACHADOS
HISTOPATOLÓGICOS EM PACIENTES PEDIÁTRICOS
COM ESOFAGITE EOSINOFÍLICA

CURITIBA
2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
MÁRIO CÉSAR VIEIRA

CONCORDÂNCIA INTRA E INTEROBSERVADORES DE ACHADOS
HISTOPATOLÓGICOS EM PACIENTES PEDIÁTRICOS
COM ESOFAGITE EOSINOFÍLICA

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em
Medicina Interna e Ciências da Saúde, Setor
Ciências da Saúde, Universidade Federal do
Paraná, como requisito parcial à obtenção do título
de Doutor em Medicina Interna.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Augusto Rosário Filho
Coordenador: Prof. Dr. Emilton Lima Junior

CURITIBA
2020

V658 Vieira, Mário César

Concordância intra e interobservadores de achados histopatológicos em pacientes pediátricos com esofagite eosinofílica [recurso eletrônico] / Mário César Vieira. – Curitiba, 2020.

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Augusto Rosário Filho

1. Esofagite eosinofílica. 2. Endoscopia. 3. Variações dependentes do observador. I. Rosário Filho, Nelson Augusto. II. Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

NLM: WI 255

ATA Nº 028

ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DOUTORADO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM MEDICINA INTERNA E CIÊNCIAS DA SAÚDE

No dia quatro de novembro de dois mil e vinte às 08:30 horas, na sala <https://bit.ly/3562eW7>, MICROSOFT TEAMS, foram instaladas as atividades pertinentes ao rito de defesa de tese do doutorando MÁRIO CÉSAR VIEIRA, intitulada: CONCORDÂNCIA INTRA E INTER OBSERVADORES DE ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM ESOFAGITE EOSINOFÍLICA., sob orientação do Prof. Dr. NELSON AUGUSTO ROSÁRIO FILHO. A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICINA INTERNA E CIÊNCIAS DA SAÚDE da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Membros: NELSON AUGUSTO ROSÁRIO FILHO (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), DANTE LUIZ ESCUISSATO (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), VICTOR HORACIO DE SOUZA COSTA JUNIOR (PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ), EVALDO DACHEUX DE MACEDO FILHO (INSTITUTO PARANAENSE DE OTORRINOLARINGOLOGIA - HOSPITAL IPO), CARLOS ANTONIO RIEDI (DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA - CHC - UFPR). A presidência iniciou os ritos definidos pelo Colegiado do Programa e, após exarados os pareceres dos membros do comitê examinador e da respectiva contra argumentação, ocorreu a leitura do parecer final da banca examinadora, que decidiu pela APROVAÇÃO. Este resultado deverá ser homologado pelo Colegiado do programa, mediante o atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca dentro dos prazos regimentais definidos pelo programa. A outorga de título de doutor está condicionada ao atendimento de todos os requisitos e prazos determinados no regimento do Programa de Pós-Graduação. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, NELSON AUGUSTO ROSÁRIO FILHO, lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos demais membros da Comissão Examinadora.

CURITIBA, 04 de Novembro de 2020.

Assinatura Eletrônica

04/11/2020 11:20:05.0

NELSON AUGUSTO ROSÁRIO FILHO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

04/11/2020 18:48:04.0

DANTE LUIZ ESCUISSATO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

05/11/2020 15:01:30.0

VICTOR HORACIO DE SOUZA COSTA JUNIOR

Avaliador Externo (PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

05/11/2020 15:00:57.0

EVALDO DACHEUX DE MACEDO FILHO

Avaliador Externo (INSTITUTO PARANAENSE DE OTORRINOLARINGOLOGIA - HOSPITAL IPO)

Assinatura Eletrônica

05/11/2020 16:50:04.0

CARLOS ANTONIO RIEDI

Avaliador Externo (DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA - CHC - UFPR)

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICINA INTERNA E CIÊNCIAS DA SAÚDE da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **MÁRIO CÉSAR VIEIRA** intitulada: **CONCORDÂNCIA INTRA E INTER OBSERVADORES DE ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM ESOFAGITE EOSINOFÍLICA.**, sob orientação do Prof. Dr. NELSON AUGUSTO ROSÁRIO FILHO, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 04 de Novembro de 2020.

Assinatura Eletrônica
04/11/2020 11:20:05.0
NELSON AUGUSTO ROSÁRIO FILHO
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
04/11/2020 18:48:04.0
DANTE LUIZ ESCUISSATO
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL
DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
05/11/2020 15:01:30.0
VICTOR HORÁCIO DE SOUZA COSTA JUNIOR
Avaliador Externo (PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
05/11/2020 15:00:57.0
EVALDO DACHEUX DE MACEDO FILHO
Avaliador Externo (INSTITUTO PARANAENSE DE
OTORRINOLARINGOLOGIA - HOSPITAL IPO)

Assinatura Eletrônica
05/11/2020 16:50:04.0
CARLOS ANTONIO RIEDI
Avaliador Externo (DEPARTAMENTO DE
PEDIATRIA - CHC - UFPR)

À minha esposa **Eloisa** e à nossa filha **Gabriela**,
pelo apoio incondicional, compreensão e amor
que transformaram minha vida para melhor.

Ao meu **Pai** (in memoriam) e minha **Mãe**, pelo incentivo,
pelos exemplos e pelos sacrifícios para
educarem seus filhos, que me encorajaram
e me guiaram durante toda a vida.

AGRADECIMENTOS

Aos pacientes e aos seus familiares que são fontes de inspiração na busca do conhecimento e de aprimoramento profissional

Ao meu orientador Professor Dr. Nelson Augusto Rosário, pela oportunidade, pela sabedoria e conhecimento compartilhados e pela valiosa orientação.

Aos Professores Dr. Emilton Lima Jr. e Dra. Iara Messias-Reason, pela receptividade e pelo entusiasmo na organização da pós-graduação.

Às Dras. Elizabeth S. Gugelmin, Ana Paula Percicote, Melyssa Grignet Ribeiro e Renata Augusta de Miranda pela avaliação histológica, disponibilidade e boa vontade no atendimento de nossas solicitações.

Às Dras. Luciana Bandeira Mendez Ribeiro, Sabine Krüger Truppel, Danielle Reis Yamamoto e Giovana Stival da Silva pela colaboração na organização do banco de dados de onde foi extraído o material para estudo, pelo coleguismo, competência e confiança nas atividades de trabalho.

Aos professores componentes das bancas de qualificação e de defesa (Professores Doutores Carlos Antonio Riedi, Dante Luiz Escuissato, Evaldo Macedo Filho, Guilherme F. Gomes e Solena Ziemer Kusma e Victor Horácio S. Costa Jr.), por suas relevantes contribuições ao trabalho e pelo incentivo.

À secretária do Serviço de Gastroenterologia do Hospital Pequeno Príncipe, Eliane de Almeida Farias por seu trabalho árduo, dedicação e amizade.

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde, Valéria Knapp por sua atenção, dedicação e apoio.

Aos demais colegas, funcionários e residentes do Hospital Pequeno Príncipe pela compreensão e paciência durante a realização deste trabalho.

Aos meus familiares e amigos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão deste trabalho, para meu crescimento pessoal e profissional.

RESUMO

INTRODUÇÃO: O diagnóstico de esofagite eosinofílica (EoE) requer quantificação da eosinofilia esofágica. Um sistema de escore histológico (Eosinophilic Esophagitis Histologic Scoring System-EoEHSS) desenvolvido por patologistas especialistas, analisa a inflamação eosinofílica (IE) e outras características incluindo hiperplasia de camada basal (HCB), abscessos eosinofílicos (AE), alinhamento superficial em camadas (ASC), dilatação de espaços intercelulares (DEI), alteração epitelial superficial (AES), disqueratose de células epiteliais (DCE) e fibrose da lâmina própria (FLP). O grau e o estágio das anormalidades são classificados numa escala de 4 pontos (0= normal e 3= alteração máxima). **OBJETIVO:** O objetivo desse estudo foi analisar a concordância intra e interobservadores entre patologistas não especialistas na identificação das características histológicas do EoEHSS em pacientes pediátricos. **PACIENTES E MÉTODOS:** Foram utilizadas 50 lâminas de tecido esofágico de pacientes (1-15 anos, 72% masculino) com EoE. Quatro patologistas determinaram os achados do EoEHSS em duas ocasiões. A concordância intra e interobservadores foi analisada usando o coeficiente de Kappa (κ) e coeficiente de correlação intraclassa (CCI). **RESULTADOS:** As concordâncias intra e interobservadores para a identificação da contagem de eosinófilos ≥ 15 /campo de grande aumento foram excelentes entre todas as patologistas, no entanto houve variação na avaliação dos demais componentes individuais do EoEHSS. Para a patologista mais experiente, exceto para HCB (concordância razoável; $\kappa=0,24$), os valores de κ para os itens do EoEHSS ($\kappa=0,62-0,94$) e o CCI para o escore composto (CCI=0,90-0,94) revelaram concordância substancial e excelente. Para as patologistas menos experientes, a concordância intraobservador foi moderada ($\kappa=0,47-0,50$) para IE (grau), razoável ($\kappa=0,25-0,37$) para IE (estágio), de razoável a moderada ($\kappa=0,38-0,51$) para HCB (grau), de fraca a substancial ($\kappa=0,11-0,73$) para HCB (estágio), de moderada a substancial ($\kappa=0,52-0,62$) para AE (grau), de razoável a substancial ($\kappa=0,29-0,69$) para AE (estágio), de razoável a moderada ($\kappa=0,22-0,60$) para ASC (grau e estágio), de fraca a razoável ($\kappa=0,00-0,29$) para DEI (grau), de razoável a substancial ($\kappa=0,30-0,65$) para DEI (estágio), de fraca a moderada ($\kappa=0,18-0,31$) para AES (grau), de fraca a razoável ($\kappa=0,08-0,39$) para AES (estágio), de fraca a razoável ($\kappa=0,20-0,38$) para DCE (grau), de fraca a moderada ($\kappa=0,05-0,49$) para DCE (estágio), de ausente a fraca ($\kappa=<0-0,20$) para FLP (grau) e de ausente a razoável ($\kappa=<0-0,35$) para FLP (estágio). Para essas patologistas, a concordância intraobservador para o escore composto (grau e estágio) variou de moderada a substancial (CCI=0,52-0,80). A concordância interobservadores foi moderada ($\kappa=0,41$) para o grau IE (grau) e para o escore composto (estágio) (CCI=0,45), razoável (CCI =0,33) para o escore composto (grau) e variou de ausente a razoável ($\kappa=<0-0,39$) para os demais itens do EoEHSS. **CONCLUSÃO:** As concordâncias intraobservador e interobservadores para identificar contagem de eosinófilos ≥ 15 eos/CGA, essencial para o diagnóstico da EoE, foram excelentes. A maioria dos itens do EoEHSS apresentou confiabilidade substancial a excelente quando analisados por patologista experiente no diagnóstico de EoE. Entre patologistas menos experientes a concordância intra e interobservadores revelou menor repetibilidade. Estes achados sugerem haver necessidade de treinamento específico de patologistas na identificação das características do EoEHSS, uma vez que são consideradas úteis para avaliar alterações histológicas além da contagem de eosinófilos.

Palavras chave: Esofagite Eosinofílica. Endoscopia. Histologia. Variações Dependentes do Observador.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The diagnosis of eosinophilic esophagitis (EoE) requires quantification of esophageal eosinophilia. A histologic scoring system (EoEHSS) developed by expert pathologists evaluates eosinophilic inflammation (EI) and other features including epithelial basal zone hyperplasia (BZH), eosinophilic abscesses (EA), eosinophil surface layering (SL), dilated intercellular spaces (DIS), surface epithelial alteration (SEA), dyskeratotic epithelial cells (DEC) and lamina propria fibrosis (LPF). Grade and stage of abnormalities are scored using a 4-point scale (0 normal; 3 maximum change). **OBJECTIVE:** The aim of this study was to assess intra- and interobserver agreement among non-expert pathologists in identifying histologic features of EoEHSS in pediatric patients. **PATIENTS AND METHODS:** We used 50 glass slides from patients (aged 1-15 years; 72% male) with EoE. Four pathologists determined EoEHSS findings on two occasions. Intra- and interobserver agreement in identifying the histologic features of the EoEHSS was assessed using Kappa (κ) statistics and intra-class correlation coefficient (ICC). **RESULTS:** Intra- and interobserver agreement for the identification of eosinophil counts ≥ 15 /high power field (HPF) was excellent for all pathologists, however varied per item and among the observers when assessing additional features of the EoEHSS. For the more experienced pathologist, except for BZH (fair agreement; $\kappa=0.24$), κ values for the remaining EoEHSS ($\kappa=0.62-0.94$) items and the ICC for the composite score (ICC=0.90-0.94) revealed substantial and excellent agreement. For the less experienced pathologists, intraobserver agreement was moderate ($\kappa=0.47-0.50$) for EI (grade), fair ($\kappa=0.25-0.37$) for EI (stage), ranged from fair to moderate ($\kappa=0.38-0.51$) for BZH (grade), from poor to substantial ($\kappa=0.11-0.73$) for BZH (stage), from moderate to substantial ($\kappa=0.52-0.62$) for EA (grade), from fair to substantial ($\kappa=0.29-0.69$) for EA (stage), from fair to moderate ($\kappa=0.22-0.60$) for SL (grade and stage), from poor to fair ($\kappa=0.00-0.29$) for DIS (grade), from fair to substantial ($\kappa=0.30-0.65$) for DIS (stage), from poor to moderate ($\kappa=0.18-0.31$) for SEA (grade), from poor to fair ($\kappa=0.08-0.39$) for SEA (stage), from poor to fair ($\kappa=0.20-0.38$) for DEC (grade), from poor to moderate ($\kappa=0.05-0.49$) for DEC (stage), from absent to poor ($\kappa=-0.50-0.20$) for LPF (grade), and from absent to fair ($\kappa=-0.35$) for LPF (stage). For these pathologists, intraobserver agreement for the composite score (grade and stage) ranged from moderate to substantial (ICC=0.52-0.80). Interobserver agreement was moderate ($\kappa=0.41$) for EI (grade) and for the composite score (stage) (ICC=0.45), fair (ICC=0.33) for the composite score (grade) and ranged from absent to fair ($\kappa=-0.39$) for other items of EoEHSS. **CONCLUSION:** Intra- and interobserver agreement for the identification of eosinophil counts ≥ 15 /HPF, required for the diagnosis of EoE, was excellent. Most items of the EoEHSS and the composite scores were associated with substantial to excellent reliability when assessed by a pathologist experienced in the diagnosis of EoE. Among less experienced pathologists, intra- and interobserver agreement to identify EI and EA varied from fair to moderate, however for the remaining items was less reliable. These findings suggest that there is a need for specific training of pathologists for the identification of EoEHSS characteristics, once these features are considered useful to evaluate histologic abnormalities beyond eosinophil counts.

Keywords: Eosinophilic Esophagitis. Endoscopy. Histology. Observer Variation.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Sulcos ou estrias verticais	18
FIGURA 2 - Exsudato esbranquiçado	18
FIGURA 3 - Anéis concêntricos	18
FIGURA 4 - Características histológicas observadas na Esofagite Eosinofílica. (Hematoxilina e Eosina 40x)	20
FIGURA 5 - Características histológicas observadas na Esofagite Eosinofílica. (Hematoxilina e Eosina 10x)	20

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AE	- Abscessos Eosinofílicos
AES	- Alteração Epitelial Superficial
ANOVA	- Análise de Variância
ASC	- Alinhamento Superficial em Camadas
CCI	- Coeficientes de Correlação Intraclass
DCE	- Disceratose de Células Epiteliais
DEI	- Dilatação de Espaços Intercelulares
DRGE	- Doença do Refluxo Gastroesofágico
EoE	- Esofagite Eosinofílica
Eos/CGA	- Eosinófilos por Campo de Grande Aumento
EoEHSS	- Eosinophilic Esophagitis Histologic Scoring System
EREFS	- Endoscopic Reference Score
FLP	- Fibrose da Lâmina Própria
g	- Grama
HCB	- Hiperplasia de Camada Basal
IE	- Inflamação Eosinofílica
IBPs	- Inibidores de Bomba de Prótons
κ	- Coeficiente de Kappa
mg	- Miligrama
μ g	- Micrograma
STAT	- Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição
TGF- β 1	- Fator de Transformação do Crescimento - β 1

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Sintomas da EoE segundo a faixa etária pediátrica (adaptado de ref. ²⁰)	16
TABELA 2 Níveis de Concordância - Coeficiente de Kappa (adaptado de ref. ⁴⁶).....	29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 EPIDEMIOLOGIA	13
1.2 CONCEITOS E ETIOLOGIA.....	14
1.3 FISIOPATOLOGIA.....	14
1.4 DIAGNÓSTICO	15
1.4.1 Manifestações clínicas	16
1.4.2 Endoscopia.....	17
1.4.3 Achados histológicos.....	19
1.5 TRATAMENTO	21
1.5.1 Inibidores de bomba de prótons (IBPs).....	21
1.5.2 Corticosteroides.....	21
1.5.3 Outros tratamentos.....	22
1.5.3.1 Tratamento Dietético	23
1.5.3.2 Dilatação endoscópica	24
1.6 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO E PROGNÓSTICO	25
2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	26
3 OBJETIVO	27
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES	47
REFERÊNCIAS.....	51
APÊNDICES.....	55
ANEXOS	69

1 INTRODUÇÃO

A esofagite eosinofílica (EoE) é uma enfermidade crônica, inflamatória imunológica e/ou antígeno-mediada, caracterizada clinicamente por sintomas relacionados com disfunção esofágica e histologicamente por inflamação predominantemente eosinofílica nas biópsias de mucosa ^{1,2,3}. Foi descrita inicialmente como uma condição clínica distinta entre 1993 e 1994 em pacientes adultos ^{4,5}. Na década seguinte a EoE foi entendida como uma enfermidade mais frequente na faixa etária pediátrica devido à maioria dos casos e estudos serem oriundos de serviços de pediatria na América do Norte. Essa maior atenção por parte dos especialistas em pediatria pode ser parcialmente atribuída ao fato de ser mais frequente a prática de se coletar biópsias em procedimentos endoscópicos na rotina pediátrica ⁶. Desde então, vários estudos têm documentado a frequência crescente da EoE em diversas partes do mundo em lactentes, crianças, adolescentes e adultos.

A primeira série de casos pediátricos na América Latina foi publicada em 2007 e relatou a experiência em 2 serviços de referência em Curitiba e Porto Alegre⁷.

1.1 EPIDEMIOLOGIA

A prevalência e a incidência entre as diferentes regiões geográficas e os grupos etários são variadas. Uma meta-análise recente revelou que a incidência agrupada é de 6,6/100.000/ano em crianças e de 7,7/100.000/ano em adultos.

A prevalência agrupada é de 34 casos /100.000 crianças e de 42,2 casos/100.000 adultos. Não foram observadas diferenças entre estudos americanos em comparação com estudos europeus. A EoE é mais comum no sexo masculino com prevalência agrupada de 72,1 pacientes por 100.000 habitantes, em comparação com o sexo feminino onde a prevalência agrupada é de 29,4 pacientes por 100.000 habitantes ⁸.

1.2 CONCEITOS E ETIOLOGIA

Os critérios diagnósticos da EoE incluem: 1. Sintomas de disfunção esofagiana (não somente disfagia e impactação alimentar) em adultos e dificuldades alimentares e sintomas de doença do refluxo em crianças, e 2. infiltração eosinofílica com contagem ≥ 15 eosinófilos por campo de grande aumento (CGA) nas biópsias de esôfago quando se excluem outras enfermidades nas quais pode ocorrer eosinofilia do esôfago (doença do refluxo gastroesofágico, doença de Crohn esofágica, acalasia, gastroenterite eosinofílica, distúrbios do tecido conectivo e infecções esofágicas) antes que a EoE possa ser diagnosticada ^{1,2,3}. Apesar das recomendações de consensos anteriores terem estabelecido a necessidade de falha de resposta ao tratamento com inibidores de bomba de prótons (IBP) para a confirmação diagnóstica, atualmente essa medida não é mais recomendada ^{1,2,3}.

1.3 FISIOPATOLOGIA

Há várias hipóteses sobre os motivos que têm levado ao aumento na incidência da EoE nos últimos anos, incluindo alterações na microbiota (disbiose) e da permeabilidade epitelial; processamento de alimentos; e o uso de medicamentos supressores de ácido gástrico, reduzindo a degradação de antígenos que podem desencadear resposta imune às proteínas alimentares ⁹.

A etiologia da resposta imunológica na EoE ainda não está completamente esclarecida. Há evidências que apoiam o conceito de que a EoE ocorre como resultado de interação entre fatores ambientais e predisposição genética. Existe associação entre a EoE e outras doenças alérgicas e o antígeno que desencadeia a resposta imune pode variar individualmente ¹⁰. O fato de a maioria dos pacientes apresentar melhora com dietas de exclusão ou de eliminação reforça o papel da alergia alimentar no desencadeamento do processo imunológico ¹¹. O papel dos aeroalérgenos também tem sido investigado e pode contribuir para a variação sazonal

dos sintomas ¹². Diversos mediadores inflamatórios e fatores de transcrição, que atuam no recrutamento de eosinófilos para o esôfago têm sido estudados, incluindo CD25, transdutor de sinal e ativador de transcrição 5 (STAT-5), transdutor de sinal e ativador de transcrição 6 (STAT-6), interleucina-4, interleucina-5, interleucina-13, eotaxina-1, eotaxina-2 e eotaxina-3. O exame da mucosa esofágica revela expressão elevada de IL-5 que atua como um importante fator de crescimento eosinofílico, possivelmente mantendo a infiltração tecidual ¹³. Tem-se demonstrado que os níveis de eotaxina-3 estão correlacionados às contagens de eosinófilos e de mastócitos ¹⁴. Uma vez que a inflamação está estabelecida, vários mecanismos levam a lesão crônica que pode levar ao remodelamento esofágico e fibrose através da ação do fator de transformação do crescimento - $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)¹⁵.

Tem havido um progresso no estudo de fatores genéticos na EoE ¹⁶. Há um componente familiar uma vez que há um risco maior de apresentar a doença em outros membros da família ^{17,18}. No entanto, é possível que esta associação seja devida a uma interação complexa entre fatores genéticos e ambientais. Foram identificadas variantes na expressão de genes como ligante de quimiocina 26 (CCL26), que codificam a eotaxina-3, linfopoietina estromal tímica (TSLP), filagrina, desmogleína-1, transdutor de sinal e ativador de transcrição 6 (STAT6), calpaína 14 e fator semelhante a receptor de citocina 2 (CRLF2) em pacientes com EoE ¹⁹.

1.4 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de EoE é clínico e histológico, isto é, deve-se ter manifestações clínicas de disfunção esofágica aliadas às alterações de mucosa na endoscopia e/ou infiltrado eosinofílico nas biópsias do esôfago com contagem ≥ 15 eosinófilos por campo de grande aumento (eos/CGA) na área de maior densidade eosinofílica, em uma ou mais amostras teciduais ^{1,2,3}.

Outras causas de eosinofilia esofágica devem ser excluídas, especialmente a doença do refluxo gastroesofágico (DRGE), infecções, doenças do tecido conjuntivo,

doença de Crohn e hipersensibilidade a medicamentos, através de história clínica e exame físico detalhados e com exames complementares específicos de acordo com a suspeita clínica ^{1,2,3}.

1.4.1 Manifestações clínicas

Os sintomas da EoE e da DRGE são semelhantes e variam de acordo com a idade, o que dificulta o diagnóstico diferencial entre as duas entidades. Ao menos 5-10% dos pacientes pediátricos que apresentam controle inadequado da DRGE após intervenção terapêutica, podem ser portadores de EoE ²⁰. A tabela 1 apresenta os sintomas mais frequentes de acordo com a faixa etária ²⁰. Não está claro se as manifestações clínicas variam de acordo com a idade devido à capacidade do paciente em expressar os sintomas por amadurecimento dos processos sensoriais, ou se representa um indicativo de progressão da doença. No entanto, evidências atuais em pacientes pediátricos demonstram que o tempo de progressão da doença, sem intervenção terapêutica, pode conduzir o tecido esofágico a remodelamento e fibrose, o que se expressa nos sintomas de disfagia e impactação esofágica mais frequentes em adolescentes e adultos ²¹.

TABELA 1 Sintomas da EoE segundo a faixa etária pediátrica (adaptado de ref. ²⁰)

Lactentes / Pré-escolares	Escolares/Adolescentes
Náuseas e vômitos	Disfagia
Dor abdominal	Impactação de alimentos
Recusa alimentar	Dor abdominal ou retroesternal
Engasgos	Náuseas e vômitos
Dificuldade na aceitação de alimentos sólidos	Pirose
Baixo ganho ponderal	

Uma escala de sintomas pediátricos (PEESS v2.0) foi desenvolvida com o intuito de detectar e mensurar sintomas mais sutis, como a necessidade de beber líquidos durante as refeições, como expressão clínica da disfunção esofágica em crianças^{22,23}.

1.4.2 Endoscopia

O exame de endoscopia digestiva alta com biópsia é essencial para o diagnóstico. Os achados endoscópicos incluem edema, sulcos ou linhas verticais, anéis concêntricos e exsudatos ou pontos esbranquiçados, no entanto o aspecto macroscópico pode ser normal^{1,2,3}. Quando há suspeita diagnóstica, deve-se coletar biópsias mesmo quando o aspecto endoscópico é normal. Uma vez que a inflamação pode ser focal, recomenda-se que múltiplas biópsias de ao menos dois segmentos do esôfago sejam realizadas para aumentar a acurácia diagnóstica.

As características endoscópicas foram contempladas em um sistema de classificação (EREFS - Endoscopic Reference Score) que pode auxiliar no diagnóstico e servir para monitoramento da doença, visto que o escore endoscópico tende a reduzir, principalmente em pacientes que apresentam melhora histológica após o tratamento²⁴. As características endoscópicas podem também auxiliar na identificação de dois fenótipos da doença expressos no tipo de característica encontrada (inflamatório e fibroestenótico)

Nas figuras 1 a 3 há exemplos de imagens de achados endoscópicos na EoE.

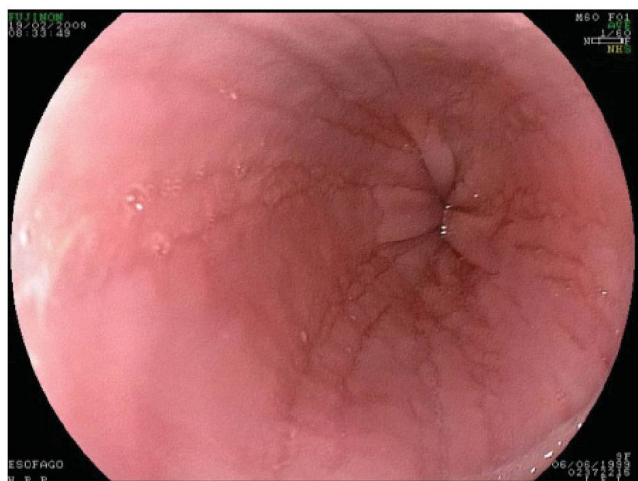


FIGURA 1 - Sulcos ou estrias verticais. (Fonte: o autor)



FIGURA 2 - Exsudato esbranquiçado. (Fonte: o autor)

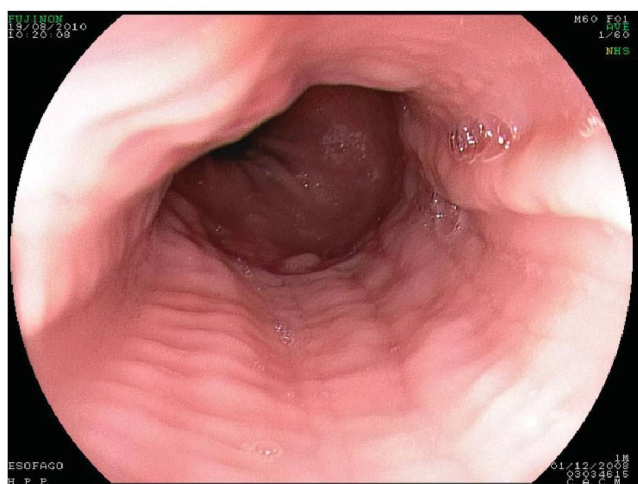


FIGURA 3 - Anéis concêntricos. (Fonte: o autor)

1.4.3 Achados histológicos

O critério histológico essencial para o diagnóstico da EoE é a contagem de ≥ 15 eosinófilos/ CGA na área de maior densidade eosinofílica, em uma ou mais amostras de biópsias de mucosa esofágica. Além disso, pelo menos uma avaliação de biópsias de estômago e duodeno deve ser realizada para identificar ou afastar o diagnóstico de doença eosinofílica gastroduodenal ^{1,2,3}.

Em 2017, Collins et al. desenvolveram um sistema de escore histológico para esofagite eosinofílica (EoEHSS) para avaliar as alterações na mucosa além da contagem máxima de eosinófilos. As figuras 4 e 5 ilustram as características histológicas mais comumente observadas na EoE. O EoEHSS avalia a inflamação eosinofílica (IE), a hiperplasia da camada basal (HCB), a presença de abscessos eosinofílicos (AB), o alinhamento superficial de eosinófilos em camadas (ASC), a dilatação de espaços intercelulares (DEI), a alteração epitelial superficial (AES), a disqueratose de células epiteliais (DCE) e a fibrose da lâmina própria (FLP). A intensidade (grau) e extensão (estágio) das alterações são classificadas usando uma escala (0 - normal a 3 - alteração máxima). O escore máximo para grau e estágio para cada biópsia é de 24. O escore composto final corresponde à razão entre a soma dos escores atribuídos para cada item avaliado dividido pelo escore máximo possível, obtendo-se uma variação de 0 a 1. Se uma característica não é avaliada, o escore máximo é reduzido em 3 pontos ²⁵. O EoEHSS permite avaliar a intensidade e extensão de múltiplas características histológicas da EoE e pode ser aplicado na rotina da análise histopatológica. A concordância intra e interobservadores destes achados foi recentemente avaliada entre patologistas especialistas em doenças gastrointestinais com experiência no diagnóstico de EoE após treinamento específico na análise dos itens contemplados no EoEHSS ²⁶.

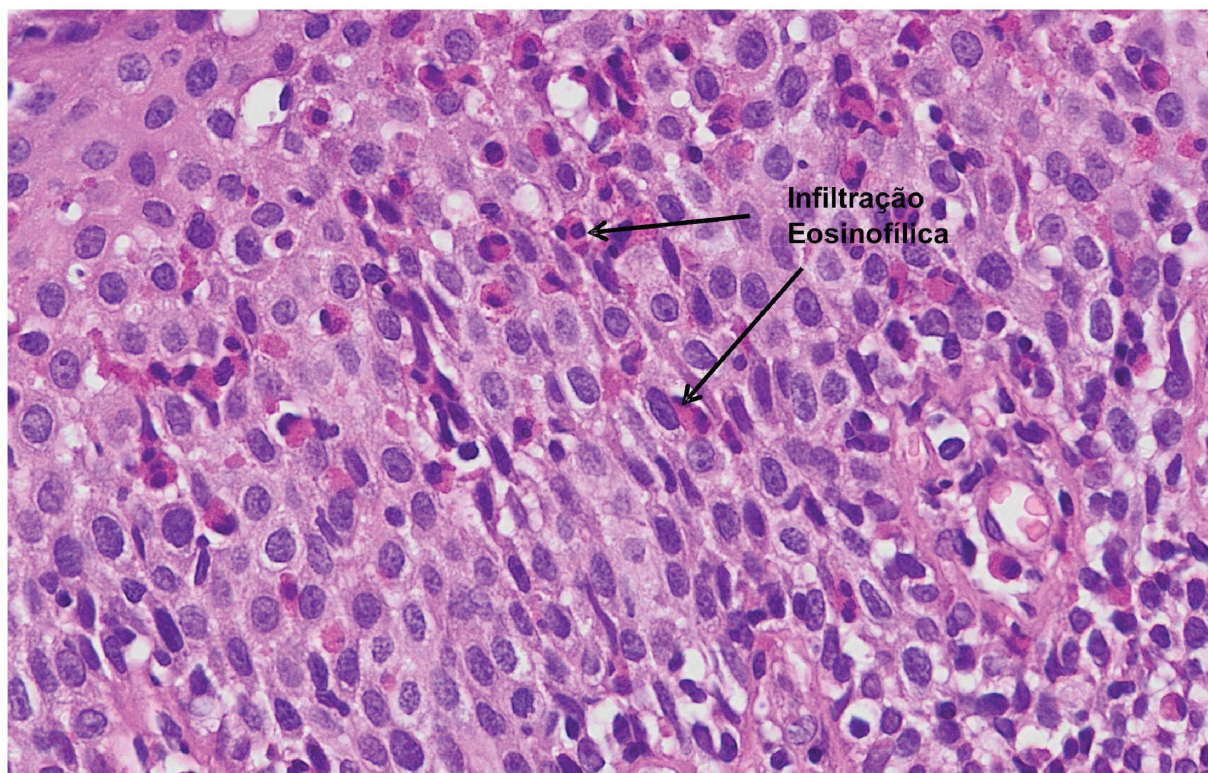


FIGURA 4 - Características histológicas observadas na Esofagite Eosinofílica.

(Hematoxilina e Eosina 40X). (Fonte: o autor)

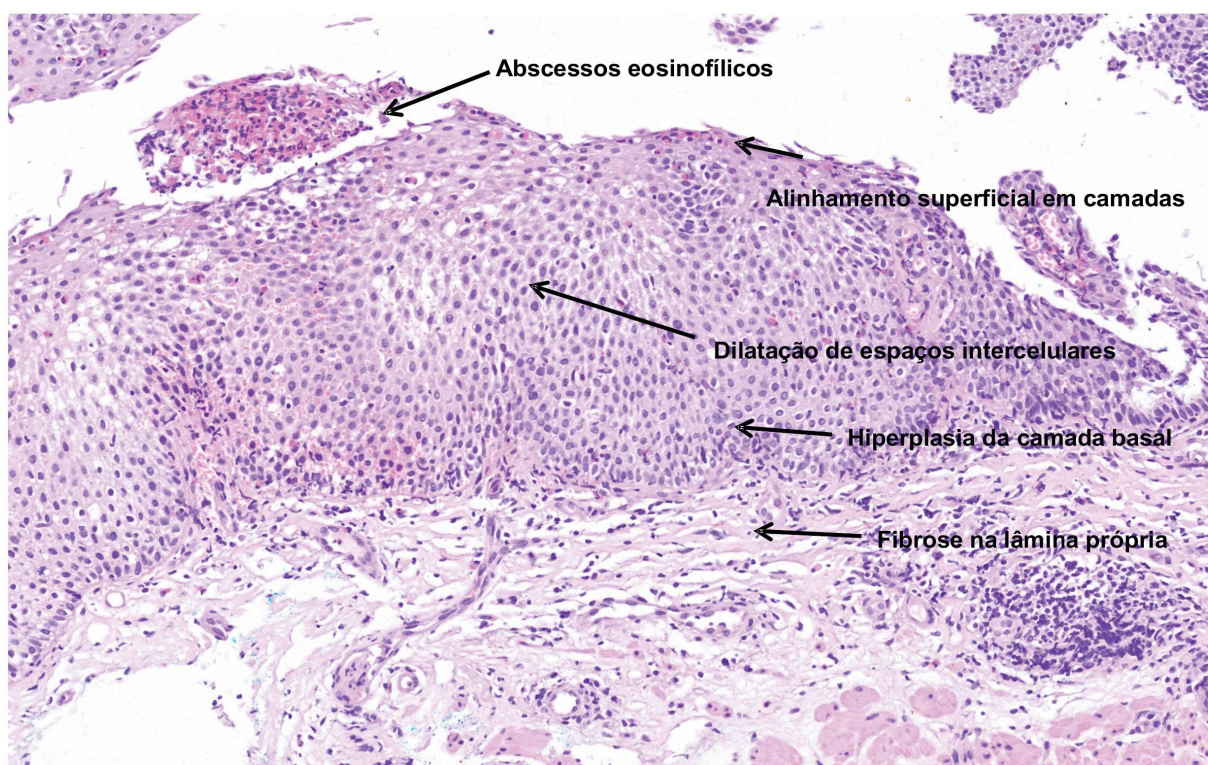


FIGURA 5 - Características histológicas observadas na Esofagite. (Hematoxilina e Eosina 10x). (Fonte: o autor)

1.5 TRATAMENTO

A abordagem terapêutica da EoE inclui tratamento farmacológico, dietético (eliminação de alérgenos específicos) e endoscópico (dilatações).

Caso não sejam tratados e monitorados adequadamente, os pacientes com EoE podem apresentar complicações relacionadas ao remodelamento esofágico ^{1,2,3}.

Os principais objetivos do tratamento são a melhora dos sintomas, a redução da inflamação eosinofílica e a prevenção de complicações. A modalidade de tratamento escolhida deve levar em conta o impacto dos sintomas e do tratamento com dietas restritivas ou uso diário de medicamentos além da necessidade de monitoração endoscópica ^{27,28}.

1.5.1 Inibidores de bomba de prótons (IBPs)

Os IBPs são considerados atualmente uma opção terapêutica na EoE^{27,28,29}. Além de inibirem a produção de ácido, tem sido demonstrado que os IBPs exercem atividade anti-inflamatória reduzindo a produção de eotaxina-3 induzida por IL-13^{27,28,30,31}. Em geral, utiliza-se 1 mg/Kg/dose de 12/12 horas, por 8 semanas, quando a endoscopia deve ser repetida. Se as biópsias na segunda endoscopia revelarem diminuição na contagem de eosinófilos (< 15 eosinófilos/CGA), reduz-se a dose da medicação para 1mg/Kg/dia. Por outro lado, se o paciente não responde aos IBPs, com persistência da eosinofilia, pode-se optar pelo tratamento dietético ou com corticosteroides^{1,2,3}. Deve-se ter em mente que a comparação direta da eficácia dos IBPs com outras modalidades terapêuticas ainda é limitada uma vez que a maioria dos estudos excluiu pacientes com EoE que respondiam aos IBPs ²⁷.

1.5.2 Corticosteroides

Os corticosteroides sistêmicos são capazes de induzir melhora clínica e

histológica, no entanto pelo perfil de efeitos colaterais não são recomendados no tratamento da EoE^{1,2,3}. O uso de corticosteroides tópicos deglutidos (fluticasona e budesonida) tem demonstrado bons resultados e vantagens em relação à segurança e eficácia quando comparados aos corticoides sistêmicos^{27,28,32,33,34}. As preparações administradas na forma viscosa deglutida (p.ex. budesonida misturada com sucralose) ou em pó parecem ser mais eficazes do que a forma em aerossol, por permitirem um maior tempo de contato da medicação com a mucosa esofágica^{27,28,32,34}. As dosagens apresentam ampla variação nos estudos publicados em crianças. As doses pediátricas para fluticasona podem variar de 880-1760 mcg/dia na indução e de 440-880 mcg/dia na manutenção, e para budesonida de 1 mg por dia em crianças com idade inferior a 10 anos e 2 mg por dia em crianças com mais idade, adolescentes e adultos^{1,2}. A dose diária usualmente é dividida em duas administrações e deve-se recomendar que os pacientes não ingiram alimentos e líquidos ao menos por 30 minutos após a ingestão da medicação. Recentemente, uma formulação de budesonida em comprimidos dispersíveis foi desenvolvida e aprovada pela Agência Europeia de Medicamentos^{27,28,35}. Os efeitos adversos do uso de corticosteroides tópicos limitam-se a candidíase orofaríngea e esofágica ocasional. Alguns estudos observacionais têm descrito efeito bioquímico ocasional na função adrenal sem relevância clínica^{27,28,36}.

O perfil de segurança do uso de corticosteroides tópicos utilizados no tratamento da rinite e asma associados à baixa biodisponibilidade destes fármacos permite utilizá-los com segurança até que novos estudos indiquem o contrário²⁷.

1.5.3 Outros tratamentos

A utilização de terapia biológica com anticorpos anti- IL- 5, IL4 ou IL 13 parece promissora. A terapia biológica oferece uma vantagem de atuar nos aspectos inflamatórios subepiteliais e de remodelação na EoE^{27,28,37}. Neste momento estas modalidades de tratamento podem ser consideradas apenas no contexto de pesquisa clínica²⁷.

O antagonista seletivo dos receptores de leucotrienos (montelukaste), foi

avaliado como uma opção terapêutica, mas estudos recentes mostraram que esse agente não é eficaz na redução da infiltração eosinofílica esofágica ^{27,28,38}.

1.5.3.1 Tratamento Dietético

Há três opções recomendadas para o tratamento dietético da EoE, no entanto o número de alérgenos a serem restringidos e a ordem de reintrodução ainda não está claramente estabelecida ^{27,28,39}.

A dieta com a eliminação completa de todos os potenciais alérgenos alimentares utilizando-se fórmula baseada em compostos de aminoácidos é empregada por 6 a 8 semanas. No caso de remissão da doença, segue-se com a reintrodução de alimentos individuais ou grupos de alimentos com acompanhamento clínico e endoscópico para identificar os alimentos envolvidos. A grande maioria dos pacientes (> 90%) apresenta boa resposta clínica e histológica com este tratamento ^{27,28,39}. No entanto, a palatabilidade, os altos custos, a necessidade de grandes volumes de fórmula e o número de endoscopias para identificar os alimentos envolvidos durante a reintrodução são obstáculos potenciais para essa modalidade de tratamento. Em alguns pacientes, o uso de sonda nasogástrica para a administração da quantidade adequada da fórmula pode ser necessário ³. Outra opção de tratamento dietético é a dieta de eliminação orientada por testes laboratoriais para alergia (Prick Test e Atopy Patch Test) onde apenas alimentos identificados como potencialmente alergênicos são excluídos da dieta ^{27,28,40,41}. Os testes baseados na produção de IgE não refletem os mecanismos que desencadeiam a inflamação na EoE e não são suficientes para orientar o tratamento dos pacientes. O teste atópico de contato, mesmo refletindo reações de hipersensibilidade tardia não é padronizado ou validado ^{27,28,41}. Apesar disso, esses exames podem ser indicados especialmente em crianças, uma vez que a exclusão empírica de um ou mais alimentos em pacientes sensibilizados pode levar a reações alérgicas quando da reintrodução do alérgeno^{27,28,41}.

A eliminação empírica da dieta de quatro (leite, trigo, soja e ovos) ou de seis alimentos alergênicos mais comuns (trigo, leite, soja, ovos, oleaginosas, frutos do

mar) tem sido investigada. As taxas de remissão histológica de 74% em crianças e 71% em adultos foram relatadas com a dieta de eliminação de seis alimentos ^{27,28,39}. Estudos com a dieta de eliminação de quatro alimentos relataram taxas de remissão de 64% em crianças e 54% em adultos ^{27,28,39}. O uso de dietas de eliminação de um único (leite de vaca) ou de dois (leite de vaca e trigo) alimentos têm sido avaliadas, mas estudos prospectivos adicionais são necessários para avaliar a eficácia dessa abordagem ^{27,28,42}. Além disto, uma abordagem escalonada eliminando-se inicialmente 1 ou 2 alimentos e a seguir aumentar o nível de restrição nos pacientes que não respondem ao tratamento) tem sido avaliada com resultados animadores por ter mais fácil aderência e identificar os alimentos suspeitos evitando restrições dietéticas desnecessárias ^{27,28,43}. Essas opções podem ser mais facilmente aceitas do que as dietas elementares com melhor adesão ao tratamento.

Em geral, a eliminação empírica de alimentos deve durar de 6 a 8 semanas, seguida de avaliação clínica e endoscópica, para considerar a reintrodução de alimentos ou restrição adicional.

A escolha do manejo dietético deve ser discutida com o paciente ou a família, para considerar fatores que possam influenciar a adesão ao tratamento (idade, recursos financeiros, dificuldades de alimentação e impacto psicológico nas restrições dietéticas) ^{27,28,43}.

1.5.3.2 Dilatação endoscópica

A dilatação endoscópica com velas ou balões é uma prática já estabelecida para tratamento das estenoses esofágicas, sendo considerada segura também nos pacientes portadores de EoE. O procedimento é bem tolerado e pode promover melhora dos sintomas, no entanto não interfere na inflamação histológica. O momento da dilatação é baseado no julgamento clínico que deve levar em conta o grau de estenose, a gravidade dos sintomas e a capacidade do paciente em seguir o tratamento

medicamentoso ou dietético de forma adequada. A dilatação deve ser realizada com cautela e preferencialmente após tratamento clínico tendo em vista a inflamação do órgão e a friabilidade da mucosa ^{27,28,44}.

1.6 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO E PROGNÓSTICO

O tratamento em longo prazo é necessário para prevenção da recorrência. Portanto, os pacientes devem ser mantidos sob vigilância e se houver recidiva dos sintomas ou da eosinofilia esofágica, a terapia é reiniciada ou mantida por longo período. Para avaliação da resposta terapêutica, consideram-se os sintomas clínicos e os achados endoscópicos/histológicos, com diminuição da contagem de eosinófilos na mucosa esofágica, após 8 a 12 semanas de tratamento, como marcadores da melhora do paciente. Os estudos clínicos e experimentais, que demonstram que pode haver remodelação do esôfago com deposição de colágeno indicam a necessidade de remissão histológica completa.

O prognóstico da EoE ainda não está bem estabelecido, mas aparentemente os sintomas tendem a recorrer ou persistir até a idade adulta com períodos de melhora e piora. O desenvolvimento de estenoses fibróticas decorrentes da inflamação crônica e deposição de colágeno, são as possíveis complicações de longo prazo descritas até o momento ^{27,28,45}.

2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

A incidência e a prevalência da EoE têm aumentado nos últimos anos e os critérios diagnósticos formais têm sido discutidos. Os clínicos e endoscopistas se apoiam nos achados histopatológicos para confirmar a suspeita clínica e endoscópica da enfermidade.

A característica histológica principal em pacientes com EoE é a infiltração de eosinófilos no esôfago. No entanto, a eosinofilia esofágica é uma reação inespecífica que ocorre diante de outras causas, incluindo DRGE, infecções, uso de medicamentos, gastroenterite eosinofílica, doença de Crohn e neoplasias. Portanto, o aumento no número de eosinófilos é um achado inespecífico e deve ser interpretado em conjunto com as características clínicas e endoscópicas assim como com outros achados histológicos nas biópsias do esôfago, estômago e duodeno.

A avaliação histopatológica do esôfago de pacientes com EoE na prática clínica é importante uma vez que este exame é essencial para estabelecer o diagnóstico de uma enfermidade crônica que requer tratamento e monitoração contínuos e prolongados e que tem impacto na qualidade de vida.

Estas recomendações incluem o conceito de que a análise histológica é confiável. Enquanto a contagem de eosinófilos e identificação de outras características histológicas parecem aparentemente simples, na prática e do ponto de vista de metodologia de pesquisa, este é um tema complexo.

O sistema de escore histológico para esofagite eosinofílica (EoEHSS) propõe a padronização na identificação e descrição dos achados observados nas biópsias²⁵. No entanto, a repetibilidade e reprodutibilidade deste sistema ainda não foram avaliadas na prática clínica entre patologistas não especialistas.

3 OBJETIVO

O objetivo deste estudo é avaliar a concordância intra e interobservadores dos achados histológicos contemplados no EoEHSS em pacientes pediátricos com EoE.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado em serviço de referência em gastroenterologia pediátrica. Foram selecionados por sorteio, 50 pacientes pediátricos com diagnóstico confirmado de EoE (≥ 15 eos/CGA) cujas lâminas de biópsias de esôfago realizadas antes do tratamento foram utilizadas para o estudo. Todas as lâminas coradas por hematoxilina e eosina foram revisadas por um patologista experiente 2 meses antes do início do estudo para avaliar a qualidade do material.

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Pequeno Príncipe, Curitiba-PR (CAAE: 56828616.1.0000.0097, número do parecer 1.603.292 na data de 22/06/2016).

Quatro patologistas com níveis diferentes de experiência no diagnóstico de EoE na prática clínica participaram do estudo. Antes do estudo, a patologista considerada mais experiente havia avaliado mais biópsias de pacientes com EoE (>1.200 biópsias), em comparação com a patologista considerada moderadamente experiente (aproximadamente 150 biópsias) e com as patologistas consideradas menos experientes (< 15 biópsias). Todas as patologistas tomaram conhecimento do protocolo para determinação da infiltração eosinofílica e dos demais achados histológicos na EoE antes de avaliar as lâminas, porém não foi realizado treinamento para a interpretação de cada uma das características no sentido de criar padrões histológicos²⁵.

As lâminas tiveram seus registros de identificação modificados de forma que não fosse possível correlacioná-las aos pacientes ou identificá-las em duas avaliações consecutivas como pertencentes ao mesmo paciente.

As médicas patologistas analisaram os achados histopatológicos (EoEHSS) sob microscopia óptica em duas oportunidades com intervalo de ao menos duas semanas entre as avaliações em seus próprios microscópios de trabalho (patologista 1 - microscópio Olympus® CH30; patologista 2 - microscópio Olympus® BX 23; patologista 3 - microscópio Olympus® CX31 e patologista 4 - microscópio Zeiss®

Axiostar). A área com maior densidade eosinofílica foi selecionada e o número total de eosinófilos por campo de grande aumento (magnificação de 400x) foi descrito. Foram analisados todos os componentes individuais do EoEHSS assim como os escores compostos de grau (intensidade) e estágio (extensão) que foram registrados no formulário padronizado de coleta de dados (Anexo 1).

Ao final de cada análise, as informações obtidas do banco de dados foram digitadas em planilha Microsoft Excel® (Microsoft Corporation, Redmond, E.U.A) e importadas para o programa computacional Stata/SE v.14.1. StataCorpLP, USA, para serem processadas.

4.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O kappa (κ) é uma medida de concordância intra e interobservadores que mede o grau de concordância além do que seria esperado tão somente pelo acaso e varia geralmente de + 1 a -1, onde um valor mais alto significa maior confiabilidade. Valores próximos ou menores que zero sugerem que a concordância é atribuível ao acaso. Um $\kappa < 0,0$ indica ausência de concordância, de 0 a 0,20 concordância fraca, de 0,21 a 0,40 concordância razoável, de 0,41 a 0,60 concordância moderada, de 0,61 a 0,80 concordância substancial e de 0,81 a 1,00 concordância excelente ⁴⁶ (Tabela 2).

TABELA 2 Níveis de Concordância - Coeficiente de Kappa (adaptado de ref. ⁴⁶)

< 0	Ausente
0,00 - 0,20	Fraca
0,21 - 0,40	Razoável
0,41 - 0,60	Moderada
0,61 - 0,80	Substancial
0,81 - 1,0	Excelente

Para o cálculo do tamanho da amostra foi considerada uma escala com 4

classificações com distribuição uniforme nas marginais para a comparação de dois avaliadores. Para este cálculo considerou-se como aceitável um Kappa igual a 0,8 e um grau de confiança de 95%. Uma amostra de 50 pacientes foi considerada suficiente para estimar o coeficiente Kappa de concordância entre dois avaliadores, considerando-se uma margem de erro relativo de 20%.

Foi utilizada estatística descritiva para caracterizar os pacientes em estudo. Para variáveis categóricas, utilizaram-se frequências e percentuais.

A concordância intra e interobservadores de todos os componentes do EoEHSS foi calculada. A concordância interobservadores foi baseada nos resultados da primeira leitura de cada patologista.

Para avaliação da concordância em variáveis de natureza ordinal (ítems individuais do EoEHSS), foi estimado o coeficiente de Kappa de Fleiss e para avaliação das medidas na variável escore composto (variável numérica) foi estimado o coeficiente de correlação intraclass (CCI)⁴⁷. Para avaliação da existência de diferença sistemática entre as duas medidas realizadas por um mesmo patologista, em relação à variável escore composto, foi empregado o teste t de Student. Para investigação da homogeneidade das avaliações dos quatro patologistas, quando da avaliação da variável escore, foi considerado o modelo de análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas. Para os coeficientes de Kappa foram construídos intervalos com 95% de confiança. Valores de “p” menores do que 0,05 indicaram significância estatística.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

(ARTIGO CIENTÍFICO RELACIONADO À TESE)

Article title: Intra- and interobserver agreement of histopathological findings in
pediatric patients with eosinophilic esophagitis

Short title: Histopathological findings in eosinophilic esophagitis

ABSTRACT

INTRODUCTION: The diagnosis of eosinophilic esophagitis (EoE) requires quantification of esophageal eosinophilia. A histologic scoring system (EoEHSS) developed by expert pathologists evaluates eosinophilic inflammation (EI) and other features including epithelial basal zone hyperplasia (BZH), eosinophilic abscesses (EA), eosinophil surface layering (SL), dilated intercellular spaces (DIS), surface epithelial alteration (SEA), dyskeratotic epithelial cells (DEC) and lamina propria fibrosis (LPF). Grade and stage of abnormalities are scored using a 4-point scale (0 normal; 3 maximum change). **OBJECTIVE:** The aim of this study was to assess intra- and interobserver agreement among non-expert pathologists in identifying histologic features of EoEHSS in pediatric patients. **PATIENTS AND METHODS:** We used 50 glass slides from patients (aged 1-15 years; 72% male) with EoE. Four pathologists determined EoEHSS findings on two occasions. Intra- and interobserver agreement in identifying the histologic features of the EoEHSS was assessed using Kappa (κ) statistics and intra-class correlation coefficient (ICC). **RESULTS:** Intra- and interobserver agreement for the identification of eosinophil counts ≥ 15 /high power field (HPF) was excellent for all pathologists, however varied per item and among the observers when assessing additional features of the EoEHSS. For the more experienced pathologist, except for BZH (fair agreement; $\kappa=0.24$), κ values for the remaining EoEHSS ($\kappa=0.62-0.94$) items and the ICC for the composite score (ICC=0.90-0.94) revealed substantial and excellent agreement. For the less experienced pathologists, intraobserver agreement was moderate ($\kappa=0.47-0.50$) for EI (grade), fair ($\kappa=0.25-0.37$) for EI (stage), ranged from fair to moderate ($\kappa=0.38-0.51$) for BZH (grade), from poor to substantial ($\kappa=0.11-0.73$) for BZH (stage), from moderate to substantial ($\kappa=0.52-0.62$) for EA (grade), from fair to substantial ($\kappa=0.29-0.69$) for EA (stage), from fair to moderate ($\kappa=0.40-0.60$) for SL (grade and stage), from poor to fair ($\kappa=0.00-0.29$) for DIS (grade), from fair to substantial ($\kappa=0.30-0.65$) for DIS (stage), from poor to moderate ($\kappa=0.18-0.31$) for SEA (grade), from poor to fair ($\kappa=0.08-0.39$) for SEA (stage), from poor to fair ($\kappa=0.20-0.38$) for DEC (grade), from poor to moderate ($\kappa=0.05-0.49$) for DEC (stage), from absent to poor ($\kappa=-0.50-0.20$) for LPF (grade), and from absent to fair ($\kappa=-0.35-0.35$) for LPF (stage). For these pathologists, intraobserver agreement for the composite score (grade and stage) ranged from moderate to substantial (ICC=0.52-0.80). Interobserver agreement was moderate ($\kappa=0.41$) for EI (grade) and for the composite score (stage) (ICC=0.45), fair (ICC=0.33) for the composite score (grade) and ranged from absent to fair ($\kappa=-0.39-0.39$) for other items of EoEHSS. **CONCLUSION:** Intra- and interobserver agreement for the identification of eosinophil counts ≥ 15 /HPF, required for the diagnosis of EoE, was excellent. Most items of the EoEHSS and the composite scores were associated with substantial to excellent reliability when assessed by a pathologist experienced in the diagnosis of EoE. Among less experienced pathologists, intra- and interobserver agreement to identify EI and EA varied from fair to moderate, however for the remaining items was less reliable. These findings suggest that there is a need for specific training of pathologists for the identification of EoEHSS characteristics, once these features are considered useful to evaluate histologic abnormalities beyond eosinophil count.

Keywords: Eosinophilic Esophagitis. Endoscopy. Histology. Observer Variation.

1. INTRODUCTION

Eosinophilic esophagitis (EoE) is a chronic, inflammatory, immune- and/or antigen-mediated disease clinically characterized by symptoms of esophageal dysfunction and histologically by dense eosinophilic inflammation in mucosal biopsies¹⁻³. Since its initial description at the end of the 1970s and its identification as a distinct clinical entity in 1993, EoE has been increasingly recognized over the last 20 years¹⁻⁵. EoE symptoms vary according to age. Infants and younger children may present with feeding difficulties vomiting and regurgitation, while older children, adolescents and adults may also present with dysphagia and the sensation of food lodged in the esophagus (food impaction)^{1,2}.

The criteria for the diagnostic and therapeutic approach to EoE have been continuously discussed since the initial description of the disease^{6,7}.

Upper gastrointestinal endoscopy with biopsy is essential for diagnosis. Endoscopic findings include edema, furrows or vertical lines, concentric rings and exudates or white spots. However, the macroscopic appearance may be normal^{2,3,8}. Upon diagnostic suspicion, biopsies should be obtained even when the endoscopic appearance is normal. As the inflammation may be focal, it is recommended that multiple biopsies of at least two esophageal segments be obtained to increase the diagnostic accuracy².

The diagnosis of EoE involves clinical, endoscopic and histological factors, i.e., there must be clinical manifestations of esophageal dysfunction combined with mucosal changes on endoscopy and/or eosinophilic infiltrate in esophageal biopsies with a count of ≥ 15 eosinophils per high-power field (eos/HPF) in the area of greatest eosinophil density in one or more tissue samples^{2,3}.

Other causes of esophageal eosinophilia should be excluded, especially gastroesophageal reflux disease (GERD), infections, connective tissue diseases, Crohn's disease and hypersensitivity to medications, through a detailed clinical history and physical examination and diagnostic testing according to the clinical suspicion¹⁻³.

The spectrum of histopathological changes in EoE determined the development of classifications and scores that improve diagnostic quality⁹⁻¹³. A histological scoring system uses the intensity and extent of eosinophil granule protein deposition; however, the need for immunohistochemistry techniques hinders its use in clinical practice¹⁰.

In 2017, Collins et al. developed a histological scoring system (EoEHSS) to assess changes in the mucosa in addition to the peak eosinophil count. Figure 1 illustrates the most common histological features observed in EoE. The EoEHSS evaluates eosinophil infiltration (EI), basal zone hyperplasia (BZH), the presence of eosinophilic abscesses (EA), eosinophil surface layering (SL), dilated intercellular spaces (DIS), surface epithelial alterations (SEA), dyskeratotic epithelial cells (DEC) and lamina propria fibrosis (LPF). The severity (grade) and extent (stage) of the changes are classified using a scale (0 - normal to 3 - maximum change). The maximum score for grade and stage for each biopsy is 24. The final score is the ratio between the sum of the scores assigned to each evaluated item divided by the maximum possible score and varies from 0 to 1. If a feature is not evaluated, the maximum score is reduced by 3 points¹⁴. The EoEHSS allows evaluation of the severity and extent of multiple histological features of EoE and can be applied in routine histopathological analysis. The intraobserver and interobserver agreement of these findings was recently evaluated among pathologists specialized in gastrointestinal diseases with experience in the diagnosis of EoE after specific training in the analysis of items included in the EoEHSS¹⁵.

However, the repeatability and reproducibility of this system have not yet been evaluated in clinical practice among non-expert pathologists.

The objective of this study was to evaluate the intraobserver and interobserver agreement of the EoEHSS in pediatric patients with EoE.

2. MATERIALS AND METHODS

This study was conducted at a reference center for pediatric gastroenterology. Slides of esophageal biopsies stained with hematoxylin & eosin from 50

randomly selected pediatric patients with confirmed EoE (≥ 15 eos/HPF) before treatment were used in the study. All slides were reviewed by an experienced pathologist two months prior to the beginning of the study to evaluate the quality of the material.

The study protocol was approved by the Research Ethics Committee of Hospital Pequeno Príncipe - Curitiba, Brazil (CAAE n. 56828616.1.0000.0097, number 1.603.292 on 06/22/2016).

Four pathologists with different levels of experience in the diagnosis of EoE in clinical practice volunteered to participate in the study. Prior to the study, the pathologist considered to be the most experienced had evaluated more biopsies of patients with EoE ($>1,200$ biopsies) than the pathologist considered moderately experienced (approximately 150 biopsies) and the pathologists considered less experienced (<15 biopsies). All pathologists were aware of the protocol to determine EI and other histological findings of EoE before evaluating the slides; however, no training on interpreting each feature in order to create histological standards was performed¹⁴.

The slide identification records were modified so that they could not be correlated with the patients or identified in two consecutive evaluations as belonging to the same patient.

The medical pathologists analyzed the histopathological findings (EoEHSS) under optical microscopy at two different times with an interval of at least two weeks between the evaluations using their own working binocular optical microscopes (CH30, BX23, CX31 - Olympus, Tokyo, Japan and Zeiss Axiostar - Zeiss Inc., Göttingen, Germany). The area of greatest eosinophil density was selected, and the total number of eos/HPF (400x magnification) was recorded. All individual EoEHSS components were analyzed, as well as the grade (severity) and stage (extent) scores, which were recorded in a standardized data collection form (Appendix 1).

At the end of each analysis, the information obtained from the database was entered in Microsoft Excel® spreadsheets (Microsoft Corporation, Redmond, USA) and imported into Stata/SE v.14.1 (StataCorp LP, USA) for processing.

Statistical analysis

Kappa (κ) is a measure of intraobserver and interobserver agreement that indicates the degree of agreement beyond what would be expected by chance alone and typically ranges from +1 to -1, where a greater value indicates better reliability. Values close to or less than zero suggest that the agreement is attributable to chance. A $\kappa < 0.0$ indicates no agreement, from 0 to 0.20 indicates poor agreement, from 0.21 to 0.40 indicates fair agreement, from 0.41 to 0.60 indicates moderate agreement, from 0.61 to 0.80 indicates substantial agreement and from 0.81 to 1.00 indicates excellent agreement¹⁶.

To calculate the sample size, a scale with four classifications with uniformly distributed marginals was considered for the comparison of two evaluations. For this calculation, a κ value of 0.8 and a 95 percent confidence interval were considered acceptable. A sample of 50 slides was considered adequate to estimate the κ coefficient of agreement between two evaluations, considering a relative margin of error of 20%. Descriptive statistics were used to characterize the patients under study. Frequencies and percentages were used for categorical variables.

The intraobserver and interobserver agreement for all EoEHSS components were calculated. The interobserver agreement was based on the results of each pathologist's first reading.

Fleiss' κ coefficient was estimated to assess agreement for ordinal variables, and the intraclass correlation coefficient (ICC) was estimated to evaluate the measurements in the composite score variable¹⁷. Student's t-test was used to evaluate the existence of a systematic difference between the two measurements performed by the same pathologist regarding the composite score. Repeated measures analysis of variance (ANOVA) was used to test the homogeneity of the four pathologists' evaluations for the score. For the κ coefficients, 95% confidence intervals were constructed. P-values less than 0.05 indicated statistical significance.

3. RESULTS

3.1. Demographics

The characteristics of the patients whose biopsy slides were evaluated are shown in Table 1. The mean age was 9.6 years (SD \pm 4), range 1-15 years and the majority were male (72%). Of the 50 patients, 40% (n= 20) had a diagnosis of asthma, 32% (n= 16) of allergic rhinitis, 24% (n= 12) of atopic dermatitis and 30% (n = 15) of food allergy. The most frequent symptoms that led to the indication for endoscopy were vomiting in 58% (n= 29), feeding difficulties in 40% (n= 20), dysphagia in 26% (n= 13) and low weight gain in 26% (n= 13) of patients. The endoscopic findings observed included edema in 96% (n= 48), vertical lines in 86% (n= 43), white exudates in 62% (n= 31) and concentric rings in 4% (n= 2) of patients. Only one patient presented with esophageal stricture, and only one patient had a normal endoscopic examination.

TABLE 1. Demographic and clinical variables

Variable #	Results
Gender (male)	36 (72%)
Age (years)	9.6 \pm 4
Age at onset of symptoms (months)	50.7 \pm 48
Age at diagnosis (months)	69.4 \pm 49.1
Time between onset of symptoms and diagnosis (months)	18.8 \pm 16
Weight (Kg)	22.1 \pm 13.2
Length/ height (cm)	111.1 \pm 26.7
Family history of atopy	28 (56%)
Allergic comorbidities	
Asthma	20 (40%)
Rhinitis	16 (32%)
Atopic dermatitis	12 (24%)
Food allergy	15 (30%)
Other allergies	38 (76%)
Symptoms	
Feeding difficulties	20 (40%)
Abdominal pain	11 (22%)
Poor weight gain	12 (24.5%)
Vomiting	29 (58%)
Dysphagia	13 (26%)

To be continued...

Continuation

Regurgitation	9 (18%)
Pyrosis	10 (20%)
Rumination	1 (2%)
Food impaction	2 (4%)
Endoscopic findings	
Normal	1 (2%)
Edema	48 (96%)
Furrows	43 (86%)
White exudates	31 (62%)
Rings	2 (4%)
Stricture	1 (2%)

mean \pm standard deviation

3.2. Assessment of eosinophilic infiltration (≥ 15 eos/HPF)

EI was graded in categories as per the EoEHSS (0: eosinophils not present; 1: <15 eos/HPF; 2: 15-59 eos/HPF; 3: >60 eos /HPF). Intra- and interobserver agreement for the identification of eosinophil counts ≥ 15 /high power field (grades 2 and 3), essential for the diagnosis of EoE, was excellent for all pathologists.

3.3. Assessment of intraobserver agreement (EoEHSS individual items and composite scores)

Intraobserver agreement in the evaluation of the individual components of the EoEHSS varied among the pathologists. The highest κ values were observed in the evaluation of EA(grade and stage), followed by SL (grade and stage), EI (grade) and BZH (grade).

The most experienced medical pathologist showed excellent ($\kappa > 0.80$) or substantial ($\kappa > 0.60$) intraobserver agreement for all individual items between the two evaluations, except for BZH (stage), for which agreement was fair ($\kappa = 0.24$).

The less experienced pathologists showed moderate intraobserver agreement for EI (grade), fair intraobserver agreement for EI (stage), fair to moderate intraobserver agreement for BZH (grade), poor to substantial intraobserver agreement for BZH (stage), moderate to substantial for intraobserver agreement EA (grade), moderate

to substantial intraobserver agreement for EA (stage), moderate to fair intraobserver agreement for SL (grade and stage), poor to fair intraobserver agreement for DIS (grade), fair to substantial intraobserver agreement for DIS (stage), poor to moderate intraobserver agreement for (grade), poor to moderate intraobserver agreement for SEA (stage), poor to fair intraobserver agreement for DEC (grade), poor to moderate intraobserver agreement for DEC (stage), absent to poor intraobserver agreement for LPF (grade) and absent to fair intraobserver agreement for LPF (stage).

The median ICC for the EoEHSS composite scores among the four pathologists were 0.70 (0.52 - 0.94) and 0.75 (0.64 - 0.90) for grade and stage, respectively. The most experienced pathologist showed excellent agreement for grade and stage, and the less experienced pathologists showed moderate to substantial agreement for grade and substantial agreement for stage.

Table 2 shows the estimated κ coefficient for the individual items (grade and stage) and the ICCs for the composite scores (grade and stage).

TABLE 2. Intraobserver level of agreement

	PATH 2 Kappa (CI 95%)	PATH 2 Kappa (CI 95%)	PATH3 Kappa (CI 95%)	PATH 4 Kappa (CI 95%)
EI (Grade)	0.86 (0.58; 1)	0.47 (0.22; 0.72)	0.50 (0.22; 0.78)	0.47 (0.20; 0.75)
EI (Stage)	0.63 (0.42; 0.84)	0.25 (0.03; 0.47)	0.29 (0.09; 0.5)	0.37 (0.17; 0.58)
BZH (Grade)	0.72 (0.5; 0.94)	0.38 (0.16; 0.6)	0.40 (0.21; 0.59)	0.51 (0.26; 0.77)
BZH (Stage)	0.24 (0.01; 0.49)	0.11 (-0.03; 0.25)	0.33 (0.14; 0.51)	0.73 (0.51; 0.94)
EA (Grade)	0.94 (0.74; 1)	0.62 (0.43; 0.82)	0.62 (0.43; 0.81)	0.52 (0.35; 0.7)
EA (Stage)	0.90 (0.68; 1)	0.54 (0.32; 0.75)	0.69 (0.46; 0.93)	0.29 (0.1; 0.49)
SL (Grade)	0.85 (0.59; 1)	0.53 (0.28; 0.77)	0.22 (0.01; 0.42)	0.50 (0.3; 0.71)
SL (Stage)	0.89 (0.65; 1)	0.60 (0.34; 0.87)	0.26 (0.08; 0.44)	0.46 (0.26; 0.66)
DIS (Grade)	0.77 (0.56; 0.98)	0.00 (- - -)	0.29 (0.07; 0.5)	0.00 (- - -)
DIS (Stage)	0.85 (0.65; 1)	0.30 (0.1; 0.5)	0.43 (0.24; 0.62)	0.65 (0.44; 0.85)
SEA (Grade)	0.62 (0.44; 0.81)	0.18 (-0.02; 0.38)	0.43 (0.26; 0.6)	0.31 (0.1; 0.51)
SEA (Stage)	0.78 (0.61; 0.95)	0.22 (-0.01; 0.45)	0.39 (0.23; 0.55)	0.08 (-0.08; 0.24)
DEC (Grade)	0.91 (0.63; 1)	0.38 (0.16; 0.6)	0.40 (0.2; 0.59)	0.20 (0.02; 0.37)

To be continued

Continuation

DEC (Stage)	0.83 (0.56; 1)	0.37 (0.09; 0.65)	0.49 (0.25; 0.73)	0.05 (-0.11; 0.21)
LPF (Grade)	0.69 (0.47; 0.91)	-0.50 (-0.75; -0.25)	0.12 (-0.09; 0.32)	0.20 (-0.01; 0.41)
LPF (Stage)	0.76 (0.53; 0.98)	0.35 (0.13; 0.57)	-0.03 (-0.2; 0.14)	0.17 (-0.01; 0.36)
	ICC (CI 95%)	ICC (CI 95%)	ICC (CI 95%)	ICC (CI 95%)
SCORE (Grade)	0.94 (0.91;0.97)	0.52 (0.29; 0.70)	0.77 (0.63; 0.86)	0.64 (0.44; 0.78)
SCORE (Stage)	0.90 (0.83; 0.94)	0.64 (0.45; 0.78)	0.71 (0.54; 0.82)	0.80 (0.68; 0.88)

PATH, pathologist; CI, confidence interval; EI, eosinophil inflammation; BZH, basal zone hyperplasia; EA, eosinophilic abscesses; SL, eosinophil surface layering; DIS, dilated intercellular spaces; SEA, surface epithelial alteration; DEC, dyskeratotic epithelial cells; LPF, lamina propria fibrosis; ICC, intra-class correlation coefficient.

3.4. Assessment of interobserver agreement (reproducibility)

3.4.1. Individual EoEHSS items

The κ coefficient for each of the variables evaluated the reproducibility of the results. For this analysis, the first measurement performed by each pathologist was considered. The null hypothesis of a κ coefficient equal to zero (lack of reproducibility in the results) was tested for each variable versus the alternative hypothesis of a non-zero κ coefficient. The interobserver agreement among all pathologists was moderate for EI (grade), poor for EI (stage), absent for BZH (grade), poor for BZH (stage), fair for EA (grade and stage), poor for SL (grade and stage), DIS (grade and stage), and SEA (grade and stage), and absent for DEC (grade and stage) and LPF (grade and stage).

In Table 3, the estimated κ coefficient the p-value of the statistical test and the limits of the 95% confidence interval for the κ coefficient are presented for each variable. The best interobserver agreement was found for EI grade (moderate) and for EA grade (fair).

TABLE 3 - Interobserver agreement (all pathologists)

Variable	Kappa	p	CI 95%	Reproducibility
EI (Grade)	0.41	< 0.001	0.29; 0.52	Moderate
EI (Stage)	0.13	0.003	0.05; 0.22	Poor
BZH (Grade)	-0.02	0.691	-0.1; 0.06	No agreement
BZH (Stage)	0.01	0.727	-0.07; 0.1	Poor
EA (Grade)	0.39	< 0.001	0.31; 0.46	Fair
EA (Stage)	0.33	< 0.001	0.24; 0.41	Fair
SL (Grade)	0.14	0.004	0.05 0.23	Poor
SL (Stage)	0.17	< 0.001	0.08; 0.25	Poor
DIS (Grade)	0.03	0.505	-0.06; 0.12	Poor
DIS (Stage)	0.20	< 0.001	0.12; 0.29	Poor
SEA (Grade)	0.10	0.014	0.02; 0.18	Poor
SEA (Stage)	0.07	0.036	0.01; 0.14	Poor
DEC (Grade)	-0.04	0.337	-0.13; 0.05	No agreement
DEC (Stage)	-0.05	0.366	-0.16; 0.06	No agreement
LPF (Grade)	-0.05	0.283	-0.13; 0.04	No agreement
LPF (Stage)	-0.03	0.533	-0.11; 0.06	No agreement

EI, eosinophil inflammation; BZH, basal zone hyperplasia; EA, eosinophil abscesses; SL, eosinophil surface layering; DIS, dilated intercellular spaces; SEA, surface epithelial alteration; DEC, dyskeratotic epithelial cells; LPF, lamina propria fibrosis; CI, confidence interval.

3.4.2. EoEHSS scores (grade and stage)

For the variable composite score (grade), the estimated ICC considering the four pathologists was equal to 0.33, indicating fair reproducibility.

For the variable composite score (stage), the estimated ICC was 0.45, indicating moderate reproducibility.

Table 4 shows the mean and standard deviation of the evaluations for each pathologist.

TABLE 4. EoEHSS Scores

	Pathologist 1	Pathologist 2	Pathologist 3	Pathologist 4	ICC
Grade	0.46 ± 0.12	0.39 ± 0.08	0.47 ± 0.15	0.60 ± 0.12	0.33
Stage	0.52 ± 0.12	0.42 ± 0.11	0.43 ± 0.16	0.53 ± 0.16	0.45

ICC, intra-class correlation coefficient

4. DISCUSSION

The prevalence of EoE has increased steadily in the last 20 years^{18,19}. According to the current consensus, an eosinophil count ≥ 15 eos/HPF confirms active disease. Histological evaluation of esophageal biopsies is essential to diagnose EoE as well as to monitor response to treatment^{1,2,3}.

The EoEHSS was developed to assess other histological changes in the mucosa present in EoE, in addition to the peak eosinophil count¹⁴.

Most of the studies conducted to date on the histological findings have analyzed only EI by pathologists specialized in the analysis of biopsies from patients with EoE or by less experienced pathologists after specific training in the analysis of the findings in reference centers^{20,21}. The intraobserver and interobserver agreement of the individual EoEHSS components were evaluated only during the development of the system and subsequently by pathologists specializing in the diagnosis of EoE^{14,15}.

With the increased incidence and prevalence of the disease, many patients are managed outside reference centers where general pathologists are involved in the diagnosis of various diseases. The repeatability and reproducibility of the histological findings among pathologists not specialized in EoE have not been evaluated in clinical practice.

In the present study, the intraobserver and interobserver agreement for the evaluation of EoEHSS individual items as well as the composite score were determined by pathologists with different degrees of experience in the diagnosis of EoE

Intra- and interobserver agreement for the identification of eosinophil counts ≥ 15 /high power field, essential for the diagnosis of EoE, was excellent for all pathologists, however varied per item and among the observers when assessing additional features of the EoEHSS.

For the most experienced pathologist, the intraobserver agreement was excellent or substantial in the evaluation of all individual items, except for BZH (stage), for which agreement was fair. For the variable score (grade and stage), the intraobserver agreement was also excellent for the most experienced pathologist. These findings are

equivalent to those observed in a study conducted with specialist pathologists trained in EoE reference centers that found excellent intraobserver agreement for grade and stage composite scores and was at least substantial for all the other items except for DEC, which showed fair agreement¹⁵.

The less experienced pathologists showed intraobserver agreement ranging from absent to substantial in the evaluation of individual items. The highest κ values were observed for the evaluation of EA (grade and stage), followed by SL (grade and stage), EI (grade) and BZH (grade). In this group, for the variable score (grade and stage), the intraobserver agreement ranged from moderate to substantial.

A study comparing specialist and non-specialist pathologists revealed that interobserver agreement was excellent for the determination of EI after a training session to identify the findings²⁰. That study did not analyze other histological features of EoE, which precludes comparison with the findings of our study but reinforces the need for training in the interpretation of histological findings

The interobserver agreement was moderate for EI (grade) and for the composite score (stage), fair for the composite score (grade) and absent or fair for the other individual EoEHSS components. These findings contrast with a previous study conducted with specialist pathologists in EoE reference centers that revealed excellent interobserver agreement for the grade and stage composite scores and was at least moderate for all the other items except SEA, which showed fair agreement¹⁵. This discrepancy may be explained by the difference in reproducibility between the most experienced pathologist and the others, in addition to the absence of specific prior training for the reading and uniform interpretation of the features included in the EoEHSS.

There are some limitations in interpreting the results of this study that need to be discussed.

This study was conducted in a reference center for pediatric endoscopy with experience in EoE, where only one of the participant pathologists has worked in the routine reading of slides originated from patients diagnosed and treated at the unit. The

other less experienced pathologists had not received formal training on the features of EoE histological findings and performed the analyses among other routine work activities. In addition, the pathologists evaluated the slides under different microscopes that may have different illumination configurations, levels of magnification in the objective and ocular lens system and image quality.

The slides for the study were selected from biopsy material obtained by routine endoscopy. Fragments of well-oriented biopsies are not always obtained and/or processed consistently, and the slides used in this study did not always have well-oriented sections. The quality of the biopsies and orientation of the fragments may have compromised the analysis of some findings, especially LPF and BZH. Fragmentation of the biopsies and/or mechanical compression, as well as the resolution of the microscopes, may also have affected the reproducibility of the finding

In conclusion, our findings reveal that intra- and interobserver agreement for the identification of eosinophil counts ≥ 15 /high power field, required for the diagnosis of EoE, was excellent for all pathologists. The evaluation of the individual components of the EoEHSS shows intraobserver agreement in parameters comparable to previous studies when evaluated by a pathologist experienced in the diagnosis of this disease. Among non-specialist and less experienced pathologists, the intraobserver and interobserver agreement for the identification of EI grade and EA varied from moderate to fair but the additional histological features of EoE presented lower repeatability and reproducibility.

These findings suggest that there is a need for specific training of pathologists to identify EoEHSS features in addition to eosinophil count, as they are considered useful to assess histologic abnormalities and may be important for the evaluation of response to treatment as well as for the correlation with clinical manifestations and endoscopic findings.

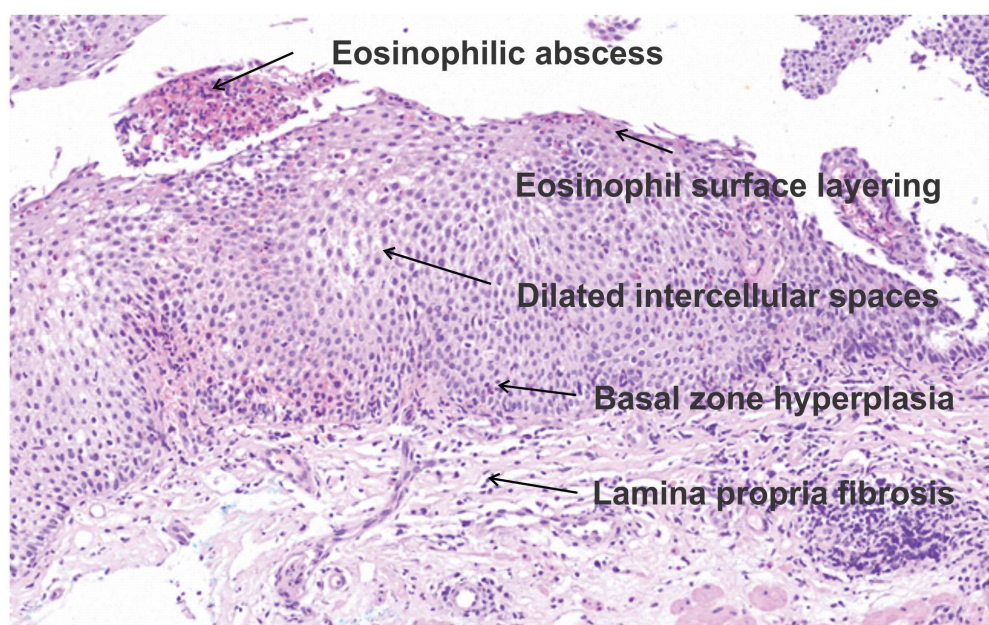
This is a study on pediatric patients in Brazil that can contribute to the diagnosis and treatment of EoE in our clinical setting and in others under the same conditions.

REFERENCES

1. Lucendo AJ, Molina-Infante J, Arias A, von Arnim U, Bredenoord AJ, Bussmann C, et al. Guidelines on eosinophilic esophagitis: evidence-based statements and recommendation for diagnosis and management in children and adults. *United European Gastroenterol J*. 2017; 5(3):335-58.
2. Dellon ES, Liacouras CA, Molina-Infante JA, Furuta GT, Spergel JM, Zevit N, et al. Updated International Consensus Diagnostic Criteria for Eosinophilic Esophagitis: Proceedings of the AGREE Conference. *Gastroenterology*. 2018;155(4):1022-33.
3. Ferreira CT, Vieira MC, Furuta GT, Barros FC, Chehade M. Eosinophilic esophagitis - Where are we today? *J Pediatr (Rio J)*. 2019;95(3):275-81.
4. Landres RT, Kuster GG, Strum WB. Eosinophilic esophagitis in a patient with vigorous achalasia. *Gastroenterology*. 1978; 74(6): 1298-301.
5. Attwood SE, Smyrk TC, Demeester TR, Jones JB. Esophageal eosinophilia with dysphagia. A distinct clinicopathologic syndrome. *Dig Dis Sci*. 1993; 38(1): 109-16.
6. Liacouras CA, Furuta GT, Hirano I, Atkins D, Attwood SE, Bonis PA et al. Eosinophilic esophagitis: Updated consensus recommendations for children and adults. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128: 3-20.
7. Furuta GT, Liacouras CA, Collins MH, Gupta SK, Justinich C, Putnam PE et al. Eosinophilic esophagitis in children and adults: a systematic review and consensus recommendations for diagnosis and treatment. *Gastroenterology* 2007; 133(4): 1342-63.
8. Hirano I, Moy N, Heckman MG, Thomas CS, Gonsalves N, Achem SR. Endoscopic assessment of the oesophageal features of eosinophilic oesophagitis: validation of a novel classification and grading system. *Gut*. 2013; 62:489-95
9. Odze RD. Pathology of eosinophilic esophagitis: what the clinician needs to know. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(2):485-90.
10. Protheroe C, Woodruff SA, de Petris G, Mukkada V, Ochkur SI, Janarthanan S, et al. A novel histologic scoring system to evaluate mucosal biopsies from patients with eosinophilic esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7(7):749-55.
11. Collins MH. Histopathologic features of eosinophilic esophagitis. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2008 ;18(1):59-71.
12. Hurrell JM, Genta RM, Melton SD. Histopathologic diagnosis of eosinophilic conditions in the gastrointestinal tract. *Adv Anat Pathol*. 2011;18(5):335-48.
13. Collins MH. Histopathology of eosinophilic esophagitis. *Dig Dis*. 2014;32(1-2):68-73.

14. Collins MH, Martin LJ, Alexander ES, Boyd JT, Sheridan R, He H, et al. Newly developed and validated eosinophilic esophagitis histology scoring system and evidence that it outperforms peak eosinophil count for disease diagnosis and monitoring. *Dis Esophagus*. 2017; 30:1-8.
15. Warners MJ, Ambarus CA, Bredenoord AJ, Verheij J, Lauwers GY, Walsh JC, et al. Reliability of histologic assessment in patients with eosinophilic oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2018;47(7):940-50.
16. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33(1):159-74.
17. Shrout PE, Fleiss JL. Intraclass correlations: uses in assessing rater reliability. *Psychol Bull*. 1979;86(2):420-8.
18. Dellon ES. Epidemiology of eosinophilic esophagitis. *Gastroenterol Clin North Am*. 2014; 43(2):201-18.
19. Dellon ES, Hirano I. Epidemiology and Natural History of Eosinophilic Esophagitis. *Gastroenterology*. 2018;154(2):319-32. e3.
20. Rusin S, Covey S, Perjar I, Hollyfield J, Speck O, Woodward K, et al. Determination of esophageal eosinophil counts and other histologic features of eosinophilic esophagitis by pathology trainees is highly accurate. *Hum Pathol*. 2017; 62:50-5.
21. Dellon ES, Fritchie KJ, Rubinas TC, Woosley JT, Shaheen NJ. Inter- and intraobserver reliability and validation of a new method for determination of eosinophil counts in patients with esophageal eosinophilia. *Dig Dis Sci*. 2010;55(7):1940-9.

Figure 1. Histological features observed in EoE (Hematoxylin & Eosin 10x)



6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

A prevalência da EoE aumentou progressivamente nos últimos 20 anos⁸. De acordo com os consensos atuais a contagem de eosinófilos ≥ 15 eos/CGA define doença ativa. A avaliação histológica das biópsias de esôfago é essencial para confirmar o diagnóstico da EoE assim como para monitorar a resposta ao tratamento^{1,2,3}.

O EoEHSS foi desenvolvido para avaliar as outras alterações histológicas na mucosa presentes na EoE além da contagem máxima de eosinófilos²⁵.

Este tema foi pouco estudado e a maioria dos trabalhos referentes aos achados histológicos feitos, até o momento, analisou apenas a infiltração de eosinófilos por patologistas especialistas na análise das biópsias de pacientes com EoE ou por patologistas menos experientes após treinamento específico na análise dos achados em centros de referência^{48,49}. A concordância intra e interobservadores dos componentes individuais do EoEHSS foi avaliada somente durante o desenvolvimento do sistema e posteriormente por patologistas especialistas no diagnóstico da EoE^{25,26}.

Com o aumento da incidência e prevalência da enfermidade, muitos pacientes são atendidos fora de centros de referência por patologistas gerais que estão envolvidos no diagnóstico de enfermidades variadas. A repetibilidade e a reprodutibilidade dos achados histológicos entre patologistas não especializados em EoE ainda não foram avaliadas na prática clínica.

Neste estudo, determinou-se a concordância intra e interobservadores da avaliação dos itens individuais do EoEHSS assim como o escore composto, por patologistas com diferentes graus de experiência no diagnóstico de EoE.

Ao analisar-se a identificação de contagem de eosinófilos ≥ 15 eos/CGA, considerada essencial para o diagnóstico da EoE sem estratificar-se em graus ou estágios, observou-se que as concordâncias interobservadores e intraobservador para todas as patologistas foram excelentes. Ou seja, todas as patologistas classificaram a IE como ≥ 15 eos/CGA nas duas avaliações.

No entanto, houve variação na concordância intraobservador na avaliação

dos componentes individuais do EoEHSS entre as patologistas.

Para a patologista mais experiente a concordância intraobservador foi excelente ou substancial na avaliação de todos os itens individuais com exceção do estágio de hiperplasia da camada basal onde a concordância foi razoável. Para a variável escore (grau e estágio) a concordância intraobservador foi também excelente para a patologista mais experiente. Estes achados são equivalentes aos observados em estudo realizado com patologistas especialistas treinados em centros de referência em EoE que demonstrou concordância intraobservador excelente para os escores compostos de grau e estágio e ao menos substancial para todos os outros itens com exceção de disceratose de células epiteliais que apresentou concordância razoável²⁶.

As patologistas menos experientes apresentaram concordância intraobservador variando de ausente a substancial na avaliação dos itens individuais. Os índices de Kappa mais elevados foram observados na avaliação de abscessos eosinofílicos (grau e estágio), seguidos de alinhamento superficial em camadas (grau e estágio), infiltração eosinofílica (grau) e hiperplasia da camada basal (grau). Nesse grupo para a variável escore (grau e estágio) a concordância intraobservador variou de moderada a substancial.

Um estudo comparando patologistas em treinamento e patologistas especialistas revelou que a concordância interobservadores foi excelente para a determinação de infiltração eosinofílica após sessão de treinamento para identificação dos achados⁴⁸. Estes autores não analisaram outras características histológicas da EoE, o que não permite comparação com os achados de nosso estudo, porém reforça a necessidade de treinamento para a interpretação dos achados histológicos.

A concordância interobservadores foi moderada para o grau de IE e para o escore composto (estágio), razoável para o escore composto (grau) e foi de ausente a razoável para os outros componentes individuais do EoEHSS. Estes achados contrastam com o estudo anterior realizado com patologistas especialistas em centros de referência em EoE que revelou concordância interobservadores excelente para os escores compostos de grau e estágio e ao menos moderada para todos os outros

itens com exceção de alteração epitelial superficial que apresentou concordância razoável²⁶. Esta discrepância pode ser explicada pela diferença de repetibilidade entre a patologista mais experiente e as demais além da ausência de treinamento prévio específico para a leitura e interpretação uniforme das características contempladas no EoEHSS.

Ao interpretar os resultados deste estudo há algumas limitações que precisam ser discutidas.

O trabalho foi conduzido em um centro de referência em endoscopia pediátrica com experiência no atendimento de pacientes com EoE, onde apenas uma das patologistas trabalhava na leitura rotineira de lâminas de pacientes atendidos no serviço. As outras patologistas menos experientes não receberam treinamento formal sobre as características dos achados histológicos da EoE e fizeram as análises entre outras atividades de rotina de trabalho. Além disto, as patologistas avaliaram as lâminas em microscópios diferentes que podem ter configurações de iluminação, grau de aumento do sistema de objetivas e oculares assim como qualidade de imagem diferentes.

As lâminas para o estudo foram selecionadas a partir de material de biópsias obtido em endoscopias de rotina. Fragmentos de biópsias bem orientados nem sempre são obtidos e/ou processados de forma consistente e as lâminas utilizadas neste estudo nem sempre apresentavam cortes bem orientados. A qualidade das biópsias e orientação dos fragmentos pode ter comprometido a análise de alguns achados especialmente da fibrose da lâmina própria e da hiperplasia da camada basal. A fragmentação das biópsias e/ou compressão mecânica, assim como a resolutividade dos microscópios podem também ter interferido na repetibilidade dos achados.

Em conclusão, nossos achados revelam que ao analisar-se isoladamente a infiltração eosinofílica (contagem de eosinófilos ≥ 15 eos/CGA), as concordâncias interobservadores e intraobservador para todas as patologistas foram excelentes. A avaliação dos achados histológicos contemplados no EoEHSS apresenta concordância intraobservador em parâmetros comparáveis aos estudos anteriores quando avaliados

por patologista experiente no diagnóstico desta enfermidade. Entre patologistas não especialistas e menos experientes, as concordâncias intra e interobservadores para identificação do grau de infiltração eosinofílica requeridos para o diagnóstico e para a identificação de abscessos eosinofílicos variam de moderada a razoável. No entanto, as características histológicas adicionais do EoEHSS apresentam menor repetibilidade e reprodutibilidade. Estes achados sugerem haver necessidade de treinamento específico de patologistas na identificação das características adicionais do EoEHSS, além da infiltração eosinofílica, uma vez que estas alterações histológicas podem ser importantes para avaliar a resposta ao tratamento assim como a correlação com as manifestações clínicas e os achados endoscópicos.

Trata-se de um estudo em pacientes pediátricos no Brasil que pode contribuir para o aprimoramento do diagnóstico e tratamento da enfermidade em nosso meio em diferentes serviços.

REFERÊNCIAS

- 1 DELLON, E. S. *et al.* Updated International Consensus Diagnostic Criteria for Eosinophilic Esophagitis: Proceedings of the AGREE Conference. **Gastroenterology**, v. 155, n. 4, p. 1022-1033, Oct. 2018.
- 2 LUCENDO, A. J. *et al.* Guidelines on eosinophilic esophagitis: evidence-based statements and recommendation for diagnosis and management in children and adults. **United European Gastroenterol. J.**, v. 5, p. 335-358, 2017.
- 3 FERREIRA, C. T. *et al.* Eosinophilic esophagitis - Where are we today? **J. Pediatr.** (Rio J.), v. 95, n. 3, p. 275-281, May-Jun. 2019.
- 4 ATTWOOD, S. E. *et al.* Esophageal eosinophilia with dysphagia. A distinct clinicopathologic syndrome. **Dig. Dis. Sci.**, v. 38, p. 109-116, 1993.
- 5 STRAUMANN, A. *et al.* Idiopathic eosinophilic esophagitis: a frequently overlooked disease with typical clinical aspects and discrete endoscopic findings. **Schweiz Med. Wochenschr.**, v. 124, p. 1419-1429, 1994.
- 6 SHAH, A. *et al.* Histopathologic variability in children with eosinophilic esophagitis. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 104, p. 716-721, 2009.
- 7 FERREIRA, C. T. *et al.* Esofagite Eosinofílica em 29 pacientes pediátricos. **Arq. Gastroenterol.**, v. 45, n. 2, p. 141-146, abr.-jun. 2008.
- 8 NAVARRO, P. *et al.* Systematic review with meta-analysis: the growing incidence and prevalence of eosinophilic oesophagitis in children and adults in population-based studies. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 49, p. 1116-1125, 2019.
- 9 SPECHLER, S. J. Speculation as to why the Frequency of Eosinophilic Esophagitis Is Increasing. **Curr. Gastroenterol. Rep.**, v. 20, p. 26, 2018.
- 10 SPERGEL, J. M. *et al.* The use of skin prick tests and patch tests to identify causative foods in eosinophilic esophagitis. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 109, n. 2, p. 363-368, 2002.
- 11 MARKOWITZ, J. E. *et al.* Elemental diet is an effective treatment for eosinophilic esophagitis in children and adolescents. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 98, n. 4, p. 777-782, 2003.
- 12 REED, C. C. *et al.* Seasonal exacerbation of eosinophilic esophagitis histologic activity in adults and children implicates role of aeroallergens. **Ann. Allergy Asthma Immunol.**, v. 122, n.3, p. 296-301, Mar. 2019.
- 13 GUPTA, S. K. *et al.* Cytokine expression in normal and inflamed esophageal mucosa: a study into the pathogenesis of allergic eosinophilic esophagitis. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 42, n. 1, p. 22-26, 2006.

14 BLANCHARD, C. *et al.* Eotaxin-3 and a uniquely conserved gene-expression profile in eosinophilic esophagitis. **J. Clin. Invest.**, v. 116, n. 2, p. 536-547, 2006.

15 NGUYEN, N. *et al.* TGF- β 1 alters esophageal epithelial barrier function by attenuation of claudin-7 in eosinophilic esophagitis. **Mucosal Immunol.**, v. 11, p. 416-426, 2018.

16 KOTTYAN, L. C. *et al.* The genetic etiology of eosinophilic esophagitis. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 145, n. 1, p. 9-15, jan. 2020. DOI: 10.1016/j.jaci.2019.11.013. Review.

17 ALEXANDER, E. S. *et al.* Twin and family studies reveal strong environmental and weaker genetic cues explaining heritability of eosinophilic esophagitis. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 134, p. 1084-1092, 2014. e1.

18 ALLEN-BRADY, K. *et al.* Population-based familial aggregation of eosinophilic esophagitis suggests a genetic contribution. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 140, p. 1138-1143, 2017.

19 CLAYTON, F.; PETERSON, K. Eosinophilic Esophagitis: Pathophysiology and Definition. **Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.**, v. 28, p. 1-14, 2018 [PMID: 29129294 DOI: 10.1016/j.giec.2017.07.011].

20 LIACOURAS, C. A.; SPERGEL, J.; GOBER, L. M. Eosinophilic esophagitis: clinical presentation in children. **Gastroenterol. Clin. North Am.**, v. 43, n. 2, p. 219-229, 2014.

21 MENARD-KATCHER, C. *et al.* Influence of Age and Eosinophilic Esophagitis on Esophageal Distensibility in a Pediatric Cohort. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 112, n. 9, p. 1466-1473, 2017.

22 FRANCIOSI, J. P. *et al.* Development of a validated patient-reported symptom metric for pediatric eosinophilic esophagitis: qualitative methods. **BMC Gastroenterol.**, v. 11, p. 126, 2011.

23 SANTOS M. F. O. *et al.* Translation and cultural adaptation of the Pediatric Eosinophilic Esophagitis Symptom Score (PEESS v2.0). **J. Ped. (Rio J.)**, in press, jan. 2018.

24 HIRANO, I. *et al.* Endoscopic assessment of the oesophageal features of eosinophilic oesophagitis: validation of a novel classification and grading system. **Gut.**, v. 62, n. 4, p. 489-495, 2013.

25 COLLINS, M. H. *et al.* Newly developed and validated eosinophilic esophagitis histology scoring system and evidence that it outperforms peak eosinophil count for disease diagnosis and monitoring. **Dis. Esophagus**, v. 30, p. 1-8, 2017.

26 WARNERS, M. J. *et al.* Reliability of histologic assessment in patients with eosinophilic oesophagitis. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 47, n. 7, p. 940-950, Apr. 2018.

- 27 HIRANO, I. *et al.* AGA Institute Clinical Guidelines Committee; Joint Task Force on Allergy-Immunology Practice Parameters. AGA Institute and the Joint Task Force on Allergy-Immunology Practice Parameters Clinical Guidelines for the Management of Eosinophilic Esophagitis. **Ann Allergy Asthma Immunol.** v, 124, n. 5, p. 416-423, May. 2020 .
- 28 RANK M. A. *et al.* AGA Institute. Technical Review on the Management of Eosinophilic Esophagitis: A Report from the AGA Institute and the Joint Task Force on Allergy-Immunology Practice Parameters. **Ann Allergy Asthma Immunol.** v. 124, n. 5, p. 424-440, May. 2020, e17.
- 29 GUTIERREZ-JUNQUERA, C. *et al.* Long-term treatment with proton-pump inhibitors is effective in children with eosinophilic esophagitis. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 67, p. 210-216, 2018.
- 30 CHENG, E. *et al.* Omeprazole blocks eotaxin-3 expression by oesophageal squamous cells from patients with eosinophilic oesophagitis and GORD. **Gut.**, v. 62, p. 824-832, 2013.
- 31 ZHANG, X. *et al.* Omeprazole blocks STAT6 binding to the eotaxin-3 promoter in eosinophilic esophagitis cells. **PLoS One**, v. 7, 2012. e50037.
- 32 DOHIL, R. *et al.* Oral viscous budesonide is effective in children with eosinophilic esophagitis in a randomized placebo-controlled trial. **Gastroenterology**, v. 139, p. 418-429, 2010.
- 33 ANDREAE, D. A. *et al.* Swallowed Fluticasone Propionate Is an Effective Long-Term Maintenance Therapy for Children With Eosinophilic Esophagitis. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 116, n. 8, p. 1187-1197, Aug. 2016. DOI: 10.1038/ajg.2016.238.
- 34 KIA, L. *et al.* Oral delivery of fluticasone powder improves esophageal eosinophilic inflammation and symptoms in adults with eosinophilic esophagitis. **Dis. Esophagus**, v. 31, n. 12, Dec. 2018. DOI: 10.1093/dote/doy098.
- 35 LUCENDO, A. J. *et al.* International EOS-1 Study Group. Efficacy of Budesonide Orodispersible Tablets as Induction Therapy for Eosinophilic Esophagitis in a Randomized Placebo-controlled Trial. **Gastroenterology**, v. 157, n. 1, p. 74-86, Jul. 2019. e15.
- 36 PHILPOTT, H. *et al.* Systematic review: adrenal insufficiency secondary to swallowed topical corticosteroids in eosinophilic oesophagitis. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 47, n. 8, p. 1071-1078, Apr. 2018.
- 37 WECHSLER, J. B.; HIRANO, I. Biological therapies for eosinophilic gastrointestinal diseases. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 142, n. 1, p. 24-31, Jul. 2018. e22.
- 38 ALEXANDER, J. A. *et al.* Montelukast does not maintain symptom remission after topical steroid therapy for eosinophilic esophagitis. **Clin. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 15, n. 2, p. 214-221, 2017. e2.

- 39 ARIAS, A. *et al.* Efficacy of dietary interventions for inducing histologic remission in patients with eosinophilic esophagitis: a systematic review and meta-analysis. **Gastroenterology**, v. 146, p. 1639-1648, 2014.
- 40 ACEVES, S. S. Food allergy testing in eosinophilic esophagitis: what the gastroenterologist needs to know. **Clin. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 12, p. 1216-1223, 2014.
- 41 GONSALVES, N. P.; ACEVES, S. S. Diagnosis and treatment of eosinophilic esophagitis. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 145, n. 1, p. 1-7, Jan. 2020.
- 42 KAGALWALLA, A. F. *et al.* Cow's milk elimination: a novel dietary approach to treat eosinophilic esophagitis. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 55, p. 711-716, 2012.
- 43 MOLINA-INFANTE, J. *et al.* Update on dietary therapy for eosinophilic esophagitis in children and adults. **Expert Ver. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 11, n. 2, p. 115-123, Feb. 2017.
- 44 SCHOEPFER, A. M. *et al.* Esophageal dilation in eosinophilic esophagitis: effectiveness, safety, and impact on the underlying inflammation. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 105, p. 1062-1070, 2010.
- 45 ACEVES, S. S. *et al.* Esophageal remodeling in pediatric eosinophilic esophagitis. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 119, n. 1, p. 206-212, 2007.
- 46 LANDIS, J.R.; KOCH G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 3, n.1, p. 159-174, 1977.
47. SHROUT, P.E.; FLEISS, J.L. Intraclass correlations: uses in assessing rater reliability. **Psychol Bull.**, v. 86, n. 5, p. 420-428, 1979.
- 48 RUSIN, S. *et al.* Determination of esophageal eosinophil counts and other histologic features of eosinophilic esophagitis by pathology trainees is highly accurate. **Hum. Pathol.**, v. 62, p. 50-55, 2017.
- 49 DELLON, E. S. *et al.* Inter- and intraobserver reliability and validation of a new method for determination of eosinophil counts in patients with esophageal eosinophilia. **Dig. Dis. Sci.**, v. 55, n. 7, p. 1940-1949, 2010.

APÊNDICE 1.

MATERIAL SUPLEMENTAR

A. Variáveis demográficas e clínicas

TABELA 1. Variáveis demográficas e clínicas dos pacientes cujas biopsias foram utilizadas no estudo.

Variável #	Resultado
Sexo (masculino)	36 (72%)
Idade (anos)	9,6 ± 4
Idade ao início dos sintomas (meses)	50,7 ± 48
Idade ao diagnóstico (meses)	69,4 ± 49,1
Intervalo entre início dos sintomas e diagnóstico (meses)	18,8 ± 16
Peso (Kg)	22,1 ± 13,2
Comprimento / estatura (cm)	111,1 ± 26,7
História familiar de alergia	28 (56%)
Comorbidades alérgicas	
Asma	20 (40%)
Rinite	16 (32%)
Dermatite atópica	12 (24%)
Alergia Alimentar	15 (30%)
Outras alergias	38 (76%)
Sintomas	
Dificuldade alimenta	20 (40%)
Dor abdominal	11 (22%)
Baixo ganho de peso	12 (24,5%)
Vômitos	29 (58%)
Disfagia	13 (26%)
Regurgitação	9 (18%)
Pirose	10 (20%)
Ruminação	1 (2%)
Impactação alimentar	2 (4%)
Achados Endoscópicos	
Normal	1 (2%)
Edema	48 (96%)
Linhas Verticais	43 (86%)
Exsudato esbranquiçado	31 (62%)
Anéis Concêntricos	2 (4%)
Estenose	1 (2%)

média ± desvio padrão

B. Concordância intraobservador

ÍTEM INDIVIDUAIS DO SISTEMA DE ESCORE HISTOLÓGICO - EoEHSS

Nas tabelas abaixo são apresentadas as estimativas dos coeficientes de Kappa, com os respectivos erros padrões, os valores de “p” dos testes estatísticos e os intervalos com 95% de confiança para o coeficiente. São apresentados os números de casos concordantes observados entre as avaliações feitas e o número esperado de casos concordantes devido exclusivamente ao acaso. Também são apresentadas as classificações da repetibilidade de acordo com a estimativa do coeficiente de Kappa.

Para cada par de patologistas sob comparação, testou-se a hipótese nula de igualdade de coeficientes de Kappa intraobservador versus a hipótese alternativa de coeficientes diferentes. São apresentados os valores de “p” destas comparações

TABELA 2 - Infiltração eosinofílica (Grau)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	p	IC (95%)	Nº de casos oncordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,86	0,14	< 0,001	0,58; 1	48 (96%)	35,2	Excelente
2	0,47	0,13	< 0,001	0,22; 0,72	36 (72%)	23,6	Moderada
3	0,50	0,14	< 0,001	0,22; 0,78	38 (76%)	26,0	Moderada
4	0,47	0,14	0,001	0,20; 0,75	38 (76%)	27,2	Moderada

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,48

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p= 0,041; 1 vs. 3: p= 0,069; 1 vs. 4: p= 0,049; 2 vs. 3: p= 0,875; 2 vs. 4: p= 1,000; 3 vs. 4: p= 0,880)

TABELA 3 - Infiltração eosinofílica (Estágio)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,63	0,10	< 0,001	0,42 0,84	40 (80%)	23,2	Substancial
2	0,25	0,11	0,025	0,03; 0,47	34 (68%)	28,6	Razoável
3	0,29	0,10	0,006	0,09; 0,5	28 (56%)	18,8	Razoável
4	0,37	0,10	< 0,001	0,17; 0,58	30 (60%)	18,0	Razoável

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,33

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p= 0,011; 1 vs. 3: p= 0,016; 1 vs. 4: p= 0,066; 2 vs. 3: p= 0,788; 2 vs. 4: p= 0,420; 3 vs. 4: p= 0,572)

TABELA 4 - Hiperplasia da Camada Basal (Grau)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,72	0,11	< 0,001	0,5; 0,94	42 (84%)	21,7	Substancial
2	0,38	0,11	0,001	0,16; 0,60	47 (94%)	45,2	Razoável
3	0,40	0,10	< 0,001	0,21; 0,59	30 (60%)	16,7	Razoável
4	0,51	0,13	< 0,001	0,26; 0,77	40 (80%)	29,5	Moderada

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,45

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p= 0,029; 1 vs. 3: p= 0,031; 1 vs. 4: p= 0,218; 2 vs. 3: p= 0,893; 2 vs. 4: p= 0,445; 3 vs. 4: p= 0,502)

TABELA 5 - Hiperplasia da Camada Basal (Estágio)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,24	0,13	0,061	-0,01; 0,49	45 (90%)	43,4	Razoável
2	0,11	0,07	0,113	-0,03; 0,25	17 (34%)	12,8	Fraca
3	0,33	0,09	< 0,001	0,14; 0,51	29 (58%)	18,8	Razoável
4	0,73	0,11	< 0,001	0,51; 0,94	43 (86%)	24,5	Substancial

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,28

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p= 0,379; 1 vs. 3: p= 0,569; 1 vs. 4: p= 0,004; 2 vs. 3: p= 0,054; 2 vs. 4: p<0,001; 3 vs. 4: p= 0,005)

TABELA 6 - Abscessos (Grau)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,94	0,10	< 0,001	0,74; 1	48 (96%)	17,8	Excelente
2	0,62	0,10	< 0,001	0,43; 0,82	38 (76%)	18,1	Substancial
3	0,62	0,09	< 0,001	0,43; 0,81	39 (78%)	21,1	Substancial
4	0,52	0,09	< 0,001	0,35; 0,7	35 (70%)	18,4	Moderada

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,61

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p= 0,024; 1 vs. 3: p= 0,017; 1 vs. 4: p= 0,002; 2 vs. 3: p= 1,000; 2 vs. 4: p= 0,457; 3 vs. 4: p= 0,432)

TABELA 7 - Abscessos (Estágio)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,90	0,11	< 0,001	0,68; 1	47 (94%)	20,3	Excelente
2	0,54	0,11	< 0,001	0,32; 0,75	36 (72%)	19,7	Moderada
3	0,69	0,12	< 0,001	0,46; 0,93	42 (84%)	23,8	Substancial
4	0,29	0,10	0,004	0,1; 0,49	30 (60%)	21,7	Razoável

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,61

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p= 0,021; 1 vs. 3: p= 0,197; 1 vs. 4: p= 0,000; 2 vs. 3: p= 0,357; 2 vs. 4: p= 0,093; 3 vs. 4: p= 0,010)

TABELA 8 - Alinhamento Superficial em Camadas (Grau)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,85	0,13	< 0,001	0,59; 1	46 (92%)	23,7	Excelente
2	0,53	0,12	< 0,001	0,28; 0,77	39 (78%)	26,8	Moderada
3	0,22	0,10	0,038	0,01; 0,42	27 (54%)	20,6	Razoável
4	0,50	0,10	< 0,001	0,3; 0,71	36 (72%)	21,8	Moderada

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,51

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p= 0,070; 1 vs. 3: p< 0,001; 1 vs. 4: p= 0,033; 2 vs. 3: p= 0,047; 2 vs. 4: p= 0,848; 3 vs. 4: p= 0,048)

TABELA 9 - Alinhamento Superficial em Camadas (Estágio)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,89	0,12	< 0,001	0,65; 1	47 (94%)	22,6	Excelente
2	0,60	0,13	< 0,001	0,34; 0,87	41 (82%)	27,3	Moderada
3	0,26	0,09	0,006	0,08; 0,44	25 (50%)	16,3	Razoável
4	0,46	0,10	< 0,001	0,26; 0,66	35 (70%)	22,2	Moderada

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,53

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p= 0,101; 1 vs. 3: p< 0,001; 1 vs. 4: p= 0,006; 2 vs. 3: p= 0,032; 2 vs. 4: p= 0,393; 3 vs. 4: p= 0,137)

TABELA 10 - Dilatação de Espaços Intercelulares (Grau)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,77	0,11	< 0,001	0,56; 0,98	43 (86%)	19,5	Substancial
2*	0,00	---	---	---	48 (96%)	48,0	Fraca
3	0,29	0,11	0,009	0,07; 0,5	35 (70%)	29,0	Razoável
4*	0,00	---	---	---	49 (98%)	49,0	Fraca

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,14

(*) Não foi possível o cálculo do erro padrão, valor de p e intervalo de confiança

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p=* -; 1 vs. 3: p= 0,002; 1 vs. 4: p=*; 2 vs. 3: p= *; 2 vs. 4: p=*; 3 vs. 4: p=*)

TABELA 11 - Dilatação de Espaços Intercelulares (Estágio)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,85	0,10	< 0,001	0,65; 1	45 (90%)	17,1	Excelente
2	0,30	0,10	0,004	0,1; 0,5	29 (58%)	20,1	Razoável
3	0,43	0,09	< 0,001	0,24; 0,62	31 (62%)	16,7	Moderada
4	0,65	0,10	< 0,001	0,44; 0,85	39 (78%)	18,7	Substancial

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,54

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p= <0,001; 1 vs. 3: p= 0,002; 1 vs. 4: p= 0,157; 2 vs. 3: p=0,334; 2 vs. 4: p= 0,013;

3 vs. 4: p=0,102)

TABELA 12 - Alteração Epitelial Superficial (Grau)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,62	0,09	< 0,001	0,44; 0,81	41 (82%)	26,1	Substancial
2	0,18	0,10	0,083	-0,02; 0,38	25 (50%)	19,5	Fraca
3	0,43	0,09	< 0,001	0,26; 0,6	30 (60%)	15,0	Moderada
4	0,31	0,10	0,004	0,1; 0,51	35 (70%)	28,3	Razoável

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,37

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p= <0,001; 1 vs. 3: p= 0,135; 1 vs. 4: p= 0,021; 2 vs. 3: p= 0,063; 2 vs. 4: p=0,358; 3 vs. 4: p=0,372)

TABELA 13 - Alteração Epitelial Superficial (Estágio)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,78	0,08	< 0,001	0,61; 0,95	42 (84%)	13,8	Substancial
2	0,22	0,11	0,060	-0,01; 0,45	28 (56%)	21,8	Razoável
3	0,39	0,08	< 0,001	0,23; 0,55	28 (56%)	13,9	Razoável
4	0,08	0,08	0,327	-0,08; 0,24	16 (32,7%)	13,2	Fraca

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,30

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p= <0,001; 1 vs. 3: p= 0,001; 1 vs. 4: p<0,001; 2 vs. 3: p= 0,211; 2 vs. 4: p= 0,303; 3 vs. 4: p= 0,006)

TABELA 14 - Disceratose de Células Epiteliais (Grau)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,91	0,14	< 0,001	0,63; 1	49 (98%)	38,7	Excelente
2	0,38	0,11	0,001	0,16; 0,6	47 (94%)	45,2	Razoável
3	0,40	0,10	< 0,001	0,2; 0,59	33 (66%)	21,8	Razoável
4	0,20	0,09	0,028	0,02; 0,37	27 (54%)	21,3	Fraca

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,39

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p= 0,003; 1 vs. 3: p=0,003; 1 vs. 4: p<0,001; 2 vs. 3: p= 0,893; 2 vs. 4: p= 0,205; 3 vs. 4: p= 0,137)

TABELA 15 - Disceratose de Células Epiteliais (Estágio)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,83	0,13	< 0,001	0,56; 1	48 (96%)	38,6	Excelente
2	0,37	0,14	0,010	0,09; 0,65	47 (94%)	45,2	Razoável
3	0,49	0,12	< 0,001	0,25; 0,73	37 (74%)	24,4	Moderada
4	0,05	0,08	0,532	- 0,11; 0,21	35 (70%)	34,2	Fraca

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

Mediana = 0,43

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: p= 0,016; 1 vs. 3: p= 0,055; 1 vs. 4: p<0,001; 2 vs. 3: p= 0,515; 2 vs. 4: p= 0,047; 3 vs. 4: p= 0,002)

TABELA 16 - Fibrose de Lâmina Própria (Grau)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,69	0,11	< 0,001	0,47; 0,91	31 (83,8%)	17,8	Substancial
2	-0,50	0,12	< 0,001	-0,75; -0,25	5 (13,5%)	15,7	Ausente
3	0,12	0,10	0,262	-0,09; 0,32	15 (40,5%)	12,1	Fraca
4	0,20	0,10	0,057	-0,01; 0,41	19 (51,4%)	14,4	Fraca

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

(*) o coeficiente negativo, com o intervalo de confiança não contendo o valor zero, indica resultados piores do que se fosse estabelecidos ao acaso

Mediana = 0,16

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: $p < 0,001$; 1 vs. 3: $p < 0,001$; 1 vs. 4: $p = 0,001$; 2 vs. 3: $p < 0,001$; 2 vs. 4: $p < 0,001$; 3 vs. 4: $p = 0,572$)

TABELA 17 - Fibrose de Lâmina Própria (Estágio)

PAT	Estatística de Kappa	Erro Padrão	Valor de p	IC (95%)	Nº de casos concordantes		Repetibilidade
					Observado	Esperado ao acaso	
1	0,76	0,11	< 0,001	0,53; 0,98	32 (86,5%)	16,5	Substancial
2	0,35	0,11	0,003	0,1; 0,57	28 (75,7%)	23,2	Razoável
3	-0,03	0,08	0,745	-0,2; 0,14	9 (24,3%)	9,8	Ausente
4	0,17	0,09	0,061	-0,01; 0,36	14 (37,8%)	9,2	Fraca

PAT, patologista; IC, intervalo de confiança

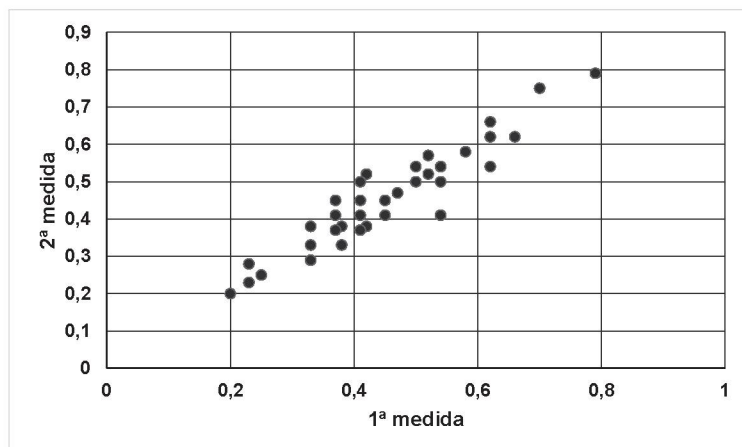
Mediana = 0,26

(Avaliadores comparados - 1 vs. 2: $p < 0,008$; 1 vs. 3: $p < 0,001$; 1 vs. 4: $p < 0,001$; 2 vs. 3: $p < 0,005$; 2 vs. 4: $p < 0,205$; 3 vs. 4: $p = 0,097$)

C. FIGURAS - Gráficos de Dispersão (Concordância intraobservador)

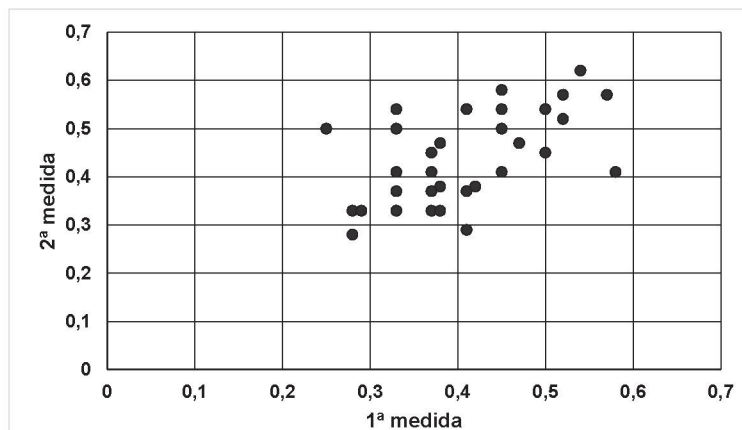
C.1. ESCORES COMPOSTOS - EoEHSS (Grau)

Figura 1. Patologista 1 - Coeficiente de correlação intraclass = 0,94 (repetibilidade excelente).



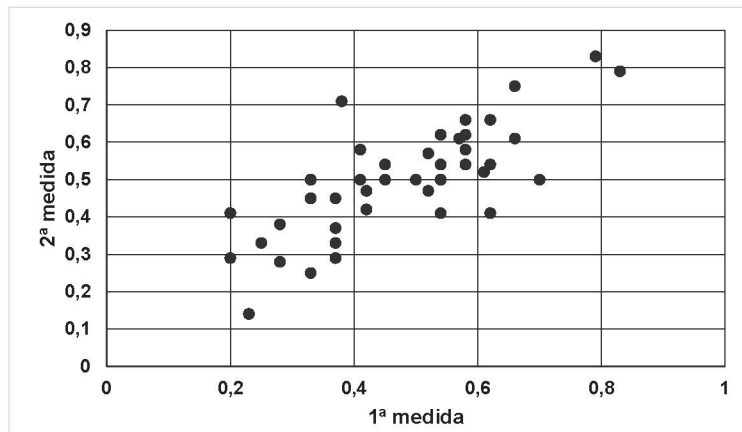
Valores de média e desvio padrão na primeira e na segunda avaliação: $0,46 \pm 0,12$ e $0,47 \pm 0,13$ ($p = 0,662$).

Figura 2. Patologista 2 - Coeficiente de correlação intraclass = 0,52 (repetibilidade moderada)



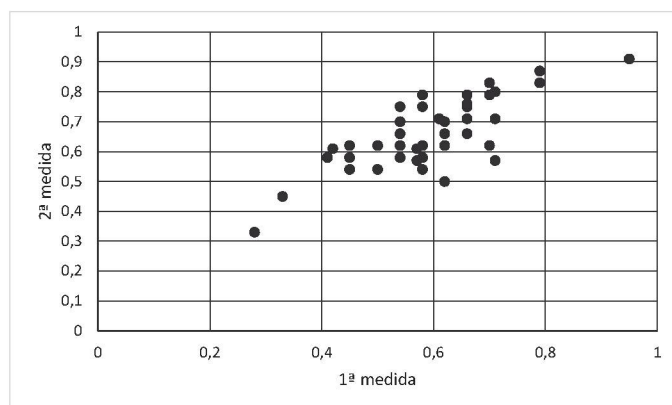
Valores de média e desvio padrão na primeira e na segunda avaliação: $0,39 \pm 0,08$ e $0,42 \pm 0,09$ ($p = 0,008$).

Figura 3. Patologista 3 - Coeficiente de correlação intraclass = 0,77 (repetibilidade substancial)



Valores de média e desvio padrão na primeira e na segunda avaliação: $0,47 \pm 0,15$ e $0,49 \pm 0,15$ ($p = 0,274$).

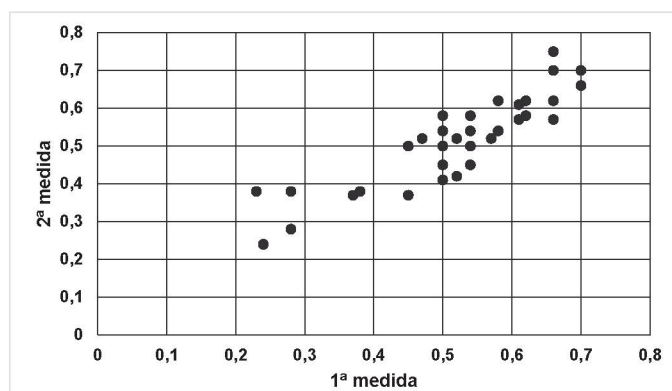
Figura 4. Patologista 4 - Coeficiente de correlação intraclassa = 0,64 (repetibilidade substancial)



Valores de média e desvio padrão na primeira e na segunda avaliação: $0,60 \pm 0,12$ e $0,66 \pm 0,11$ ($p < 0,001$).

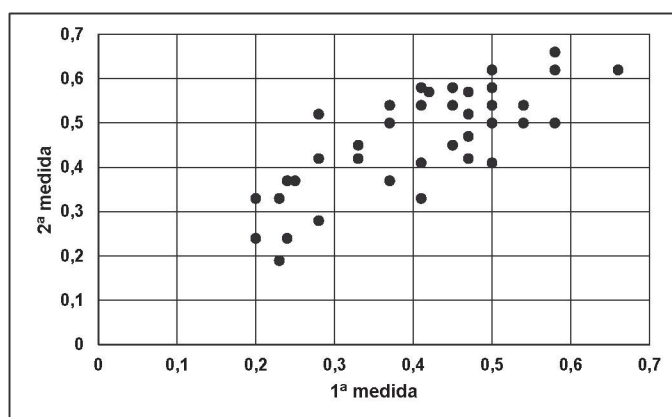
C.2. ESCORES COMPOSTOS - EoEHSS (Estágio)

Figura 5. Patologista 1 - Coeficiente de correlação intraclassa = 0,90 (repetibilidade excelente)



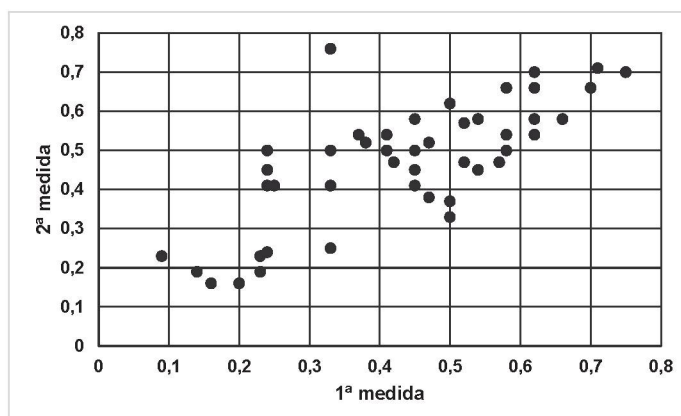
Valores de média e desvio padrão na primeira e na segunda avaliação: $0,52 \pm 0,12$ e $0,52 \pm 0,11$ ($p = 0,764$).

Figura 6. Patologista 2 - Coeficiente de correlação intraclassa = 0,64 (repetibilidade substancial)



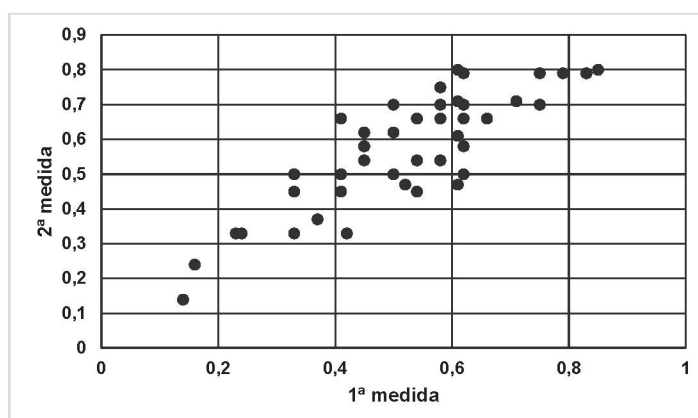
Valores de média e desvio padrão na primeira e na segunda avaliação: $0,42 \pm 0,11$ e $0,48 \pm 0,11$ ($p < 0,001$).

Figura 7. Patologista 3 - Coeficiente de correlação intraclassa = 0,71 (repetibilidade substancial)



Valores de média e desvio padrão na primeira e na segunda avaliação: $0,43 \pm 0,16$ e $0,47 \pm 0,15$ ($p = 0,016$).

Figura 8. Patologista 4 - Coeficiente de correlação intraclassa = 0,80 (repetibilidade substancial)



Valores de média e desvio padrão na primeira e na segunda avaliação: $0,53 \pm 0,16$ e $0,58 \pm 0,16$ ($p < 0,001$).

D. CONCORDÂNCIA INTEROBSERVADOR

D.1. ÍTENS INDIVIDUAIS DO SISTEMA DE ESCORE HISTOLÓGICO - EoEHSS

Na tabela 18, para cada variável, é apresentado o coeficiente de Kappa estimado, o valor de “p” do teste estatístico e os limites do intervalo com 95% de confiança para o coeficiente de Kappa. A melhor concordância interobservadores foi para o grau de IE (moderada) e para o grau de AB (razoável).

TABELA 18 - Avaliação da Concordância Interobservador (Reprodutibilidade)

Variável	Kappa	p	IC 95%	Reprodutibilidade
IE (GRAU)	0,41	< 0,001	0,29; 0,52	Moderada
IE (ESTÁGIO)	0,13	0,003	0,05; 0,22	Fraca
HCB (GRAU)	-0,02	0,691	-0,1; 0,06	Ausente
HCB (ESTÁGIO)	0,01	0,727	-0,07; 0,1	Fraca
AB (GRAU)	0,39	< 0,001	0,31; 0,46	Razoável
AB (ESTÁGIO)	0,33	< 0,001	0,24; 0,41	Razoável
ASC (GRAU)	0,14	0,004	0,05 0,23	Fraca
ASC (ESTÁGIO)	0,17	< 0,001	0,08; 0,25	Fraca
DEI (GRAU)	0,03	0,505	-0,06; 0,12	Fraca
DEI (ESTÁGIO)	0,20	< 0,001	0,12; 0,29	Fraca
AES (GRAU)	0,10	0,014	0,02; 0,18	Fraca
AES (ESTÁGIO)	0,07	0,036	0,01; 0,14	Fraca
DCE (GRAU)	-0,04	0,337	-0,13; 0,05	Ausente
DCE (ESTÁGIO)	-0,05	0,366	-0,16; 0,06	Ausente
FLP (GRAU)	-0,05	0,283	-0,13; 0,04	Ausente
FLP (ESTÁGIO)	-0,03	0,533	-0,11; 0,06	Ausente

D.2. ESCORES COMPOSTOS - EoEHSS (Grau e Estágio)

Para a variável escore (grau), o coeficiente de correlação intraclassa (CCI) estimado, considerando-se as 4 patologistas em conjunto, foi igual a 0,33 indicando reprodutibilidade razoável.

Para a variável escore (estágio), o coeficiente de correlação intraclassa (CCI) estimado foi igual a 0,45 indicando reprodutibilidade moderada.

Na tabela 19 são apresentadas a média e o desvio padrão das avaliações para cada uma das patologistas.

TABELA 19. Escores do EoEHSS

	Patologista 1	Patologista 2	Patologista 3	Patologista 4	CCI
Grau	0,46 ± 0,12	0,39 ± 0,08	0,47 ± 0,15	0,60 ± 0,12	0,33
Estágio	0,52 ± 0,12	0,42 ± 0,11	0,43 ± 0,16	0,53 ± 0,16	0,45

APÊNDICE 2.

LISTA DE PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS DURANTE A PÓS-GRADUAÇÃO

PUBLICAÇÕES - Mário Vieira (2017- 2020)

ARTIGOS

1. Vieira SCF, Santos VS, Franco JM, Nascimento-Filho HM, Barbosa KOESS, Lyra-Junior DP, Bastos KA, Cipolotti R, Wayhs MLC, **Vieira MC**, Solé D, de Moraes MB, Gurgel RQ. **Brazilian pediatricians' adherence to food allergy guidelines-A cross-sectional study. PLoS One. 2020 Feb 24;15(2): e0229356. doi: 10.1371/journal.pone.0229356.**
2. Meyer R, Chebar Lozinsky A, Fleischer DM, **Vieira MC**, Du Toit G, Vandenplas Y, Dupont C, Knibb R, Uysal P, Cavkaytar O, Nowak-Wegrzyn A, Shah N, Venter C. **Diagnosis and Management of Non-IgE gastrointestinal Allergies in Breastfed Infants - an EAACI Position Paper. Allergy. 2020 Jan;75(1):14-32. doi: 10.1111/all.13947.**
3. Fox A, Brown T, Walsh J, Venter C, Meyer R, Nowak-Wegrzyn A, Levin M, Spawls H, Beatson J, Lovis MT, **Vieira MC**, Fleischer D. **An update to the Milk Allergy in Primary Care guideline. Clin Transl Allergy. 2019 Aug 12;9: 40. doi: 10.1186/s13601-019-0281-8.**
4. Vieira GG, Ribeiro LBM, Truppel SK, Rosário Filho NA, **Vieira MC. Endoscopic and histological characteristics in patients with eosinophilic esophagitis responsive and non-responsive to proton pump inhibitors. J Pediatr (Rio J). 2019 Jul 27. pii: S0021-7557(19)30141-X. doi: 10.1016/j.jped.2019.05.005.**
5. Meyer R, Wright K, **Vieira MC**, Chong KW, Chatchatee P, Vlieg-Boerstra BJ, Groetch M, Dominguez-Ortega G, Heath S, Lang A, Archibald-Durham L, Rao R, De Boer R, Assa'ad A, Trewella E, Venter C. **International survey on growth indices and impacting factors in children with food allergies. J Hum Nutr Diet. 2019 Apr;32(2):175-184.**
6. Pierre R, **Vieira MC**, Vázquez R, Ninomiya I, Messere G, Daza W, Dadan S, Higuera M, Sifontes L, Harris P, Gana JC, Rodríguez M, Vasquez M, González M, Rivera J, Gonzales J, Angulo D, Cetraro MD, Del Compare M, López K, Navarro D, Calva R, Wagener M, Zablah R, Carias A, Calderón O, Vera-Chamorro JF, Toca MC, Dewaele MR, Iglesias C, Delgado L, León K, Hassan I, Ussher F, Follett F, Bernedo V, Grinblat V, Agüero N, Oviedo C, García AG, Salazar A, Coello P, Furnes R, Menchaca M, Fernández M, Khoury A, Rojo C, Fernández S, Morao C. **Prevalence of eosinophilic esophagitis: A multicenter study on a pediatric population evaluated at thirty-six Latin American gastroenterology centers. Rev Gastroenterol Mex. 2019 Oct - Dec;84(4):427-433. doi: 10.1016/j.rgmx.2018.08.001.**

7. Huysentruyt K, Koppen I, Benninga M, Cattaert T, Cheng J, De Geyter C, Christophe F, Gottrand F, Hegar B, Hojsak I, Miqdady M, Osatakul S, Ribes-Koninckx C, Salvatore S, Saps M, Shamir R, Staiano A, Szajewska H, **Vieira MC**, Vandenplas Y; and the BITSS working group. **The Brussels Infant and Toddler Stool Scale: A Study on Inter-Observer Reliability. J Pediatr Gastroenterol Nutr.** 2019 Feb;68(2):207-213. doi: 10.1097/MPG.0000000000002153.
8. Ferreira CT, **Vieira MC**, Furuta GT, Barros FC, Chehade M. **Eosinophilic esophagitis - Where are we today? J Pediatr (Rio J).** 2019 May-Jun;95(3):275-281.
9. Dellon ES, Liacouras CA, Molina-Infante J, Furuta GT, Spergel JM, Zevit N, Spechler SJ, Attwood SE, Straumann A, Aceves SS, Alexander JA, Atkins D, Arva NC, Blanchard C, Bonis PA, Book WM, Capocelli KE, Chehade M, Cheng E, Collins MH, Davis CM, Dias JA, Di Lorenzo C, Dohil R, Dupont C, Falk GW, Ferreira CT, Fox A, Gonsalves NP, Gupta SK, Katzka DA, Kinoshita Y, Menard-Katcher C, Kodroff E, Metz DC, Miehlke S, Muir AB, Mukkada VA, Murch S, Nurko S, Ohtsuka Y, Orel R, Papadopoulou A, Peterson KA, Philpott H, Putnam PE, Richter JE, Rosen R, Rothenberg ME, Schoepfer A, Scott MM, Shah N, Sheikh J, Souza RF, Strobel MJ, Talley NJ, Vaezi MF, Vandenplas Y, **Vieira MC**, Walker MM, Wechsler JB, Wershil BK, Wen T, Yang GY, Hirano I, Bredenoord AJ. **Updated International Consensus Diagnostic Criteria for Eosinophilic Esophagitis: Proceedings of the AGREE Conference. Gastroenterology.** 2018 Oct;155(4):1022-1033.e10. doi: 10.1053/j.gastro.2018.07.009. Epub 2018 Sep 6. Review. PMID: 30009819 [
10. Vieira SCF, Gurgel FM, Leão MZ, Costa-Silva TE, Barreto IDC, Martins-Filho PRS, **Vieira MC**, Gurgel RQ. **Survey on the Adherence to the 2009 NASPGHAN-ESPGHAN Gastroesophageal Reflux Guidelines by Brazilian Paediatricians. J Pediatr Gastroenterol Nutr.** 2018 Jul;67(1): e1-e5. doi: 10.1097/MPG.0000000000001902.
11. Venter C, Brown T, Meyer R, Walsh J, Shah N, Nowak-Węgrzyn A, Chen TX, Fleischer DM, Heine RG, Levin M, **Vieira MC**, Fox AT. **Better recognition, diagnosis and management of non-IgE-mediated cow's milk allergy in infancy: iMAP- an international interpretation of the MAP (Milk Allergy in Primary Care) guideline. Clin Transl Allergy.** 2017 Aug 23;7: 26. doi: 10.1186/s13601-017-0162-y. eCollection 2017. Review.

CAPITULOS DE LIVROS

1. Barros, CP ; **Vieira, MC** ; Ferreira, CT . **Esofagite Eosinofílica**. Int: Silva LR; Ferreira CT; Carvalho E. (Org.). Manual da Residência em Gastroenterologia Pediátrica. 1ed. Barueri -SP: Editora Manole, 2018, v. 1, p. 141-152.

2. **Vieira, MC**; Bittencourt, PFS. **Caustic Ingestions**. In: Till H; Thomson M; Foker JE; Holcomb III GW; Khan KM. (Org.). **Esophageal and Gastric Disorders in Infancy and Childhood**. 1ed. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2017, v. 1, p. 701-711.
3. **Vieira, MC**; Ribeiro, LBM; Truppel, SK. **Esofagites**. In: Dennis Alexander Rabelo Burns, Dioclecio Campos Jr, Luciana Rodrigues Silva, Wellington Gonçalves Borges, Danilo Blank. (Org.). **Tratado de Pediatria - Sociedade Brasileira de Pediatria**. 4ªed. Barueri -SP: Manole, 2017, v. 1, p. 716-719.
4. **Vieira, MC**. **Gastroesophageal Reflux and Prokinetics**. In: Vandenplas, Y. (Org.). **Gastroesophageal Reflux in Children**. 1ed.: Springer International Publishing, 2017, v. 1, p. 313-320.

ANEXO 1

RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO ANATOMO- PATOLÓGICA
Esofagite Eosinofílica

Collins MH, et al. Newly developed and validated eosinophilic esophagitis histology scoring system and evidence that it outperforms peak eosinophil count for disease diagnosis and monitoring. Dis Esophagus. 2017 Feb 1;30(3):1-8.

A - Infiltração Eosinofílica (IE)**Grau**

- 0= ausente
- 1= <15/CGA
- 2= 15-59/CGA
- 3= >60/CGA

Estágio

- 0= 0-14/CGA
- 1= ≥ 15 /CGA em <33% de CGAs
- 2= ≥ 15 /CGA em 33-66% dos CGAs
- 3= ≥ 15 /CGA em >66% dos CGAs

B - Hiperplasia da camada basal (HCB) epitelial**Grau**

- 0= HCB ausente
- 1= camada basal >15% <33% da espessura do epitélio
- 2= camada basal >33-66% da espessura do epitélio
- 3= camada basal >66% da espessura do epitélio

Estágio

- 0= HCB ausente
- 1= HCB (qualquer grau >0) em <33% do epitélio
- 2= HCB (qualquer grau >0) em 33-66% do epitélio
- 3= HCB (qualquer grau >0) em > 66% do epitélio

C - Abscessos Eosinofílicos (AB)**Grau**

- 0= ausentes
- 1= grupos de 4-9 EOS
- 2= grupos de 10-20 EOS
- 3= grupos de >20 EOS

Estágio

- 0= ausentes
- 1= AE (qualquer grau >0) em <33% do epitélio
- 2= AE (qualquer grau >0) em 33-66% do epitélio
- 3= AE (qualquer grau >0) em > 66% do epitélio

D - Alinhamento superficial em camadas (ASC)**Grau**

0= ausente ASC (< 3 EOS alinhados)

1= ASC de 3-4 EOS

2= ASC de 5-10 EOS

3= ASC de >10 EOS

Estágio

0= ausente

1= ASC (qualquer grau >0) em <33% do epitélio

2= ASC (qualquer grau >0) em 33-66% do epitélio

3= ASC (qualquer grau >0) em >66% do epitélio

E - Dilatação de Espaços Intercelulares (DEI)**Grau**

0= DEI não identificados com qualquer magnificação

1= pontes intercelulares em DEI visíveis com magnificação 400X somente

2= pontes intercelulares em DEI visíveis com magnificação 200X

3= pontes intercelulares em DEI visíveis com magnificação 100X ou menos

Estágio

0= DEI não identificados com qualquer magnificação

1= DEI (qualquer grau >0) em <33% do epitélio

2= DEI (qualquer grau >0) em 33-66% do epitélio

3= DEI (qualquer grau >0) em > 66% do epitélio

F - Alteração Epitelial Superficial (AES)**Grau**

0= AES ausente

1= AES sem EOS

2= AES com qualquer quantidade de EOS

3= alteração do epitélio superficial associada a numerosos EOS consistentes com exsudato

Estágio

0= AES ausente

1= AES (qualquer grau>0) em <33% do epitélio

2= AES (qualquer grau>0) em 33-66% do epitélio

3= AES (qualquer grau>0) em >66% do epitélio

G - Disceratose de células epiteliais (DCE):**Grau**

0= DCE ausente

1= 1 DCE/CGA

2= 2-5 DCE/CGA

3= >5 DCE/CGA

Estágio

0= DCE ausente

1= DCE (qualquer grau >0) em <33% do epitélio

2= DCE (qualquer grau >0) em 33-66% do epitélio

3= DCE (qualquer grau >0) em >66% do epitélio

H - Fibrose na lâmina própria (FLP)**Grau**

0= FLP ausente

1= fibras coesas e espaços entre as fibras não podem ser demarcados

2= diâmetro das fibras igual ao diâmetro das células basais

3= diâmetro das fibras maior que diâmetro das células basais

Estágio

0= FLP ausente

1= FLP (qualquer grau >0) em <33% da lâmina própria

2= FLP (qualquer grau >0) em 33-66% da lâmina própria

3= FLP (qualquer grau >0) em >66% da lâmina própria